

CAROLINA GOMES GONÇALVES

**CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSE COLÔNICA E NUTRIÇÃO
PRÉ-OPERATÓRIA EM RATOS DESNUTRIDOS: ESTUDO
TENSIO MÉTRICO E DE DEPOSIÇÃO DE COLÁGENO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Clínica Cirúrgica.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos

Coordenador: Prof. Dr. Jorge Eduardo F. Matias

CURITIBA

2005

GONCALVES, Carolina G

Cicatrização de anastomose colônica e nutrição pré-operatória em ratos desnutridos: estudo tensiométrico e de deposição de colágeno / Carolina Gomes Gonçalves. – Curitiba, 2005.

90 p. : il. ; 28 cm.

Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) — Departamento de Clínica Cirúrgica. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Ligoeki Campos.

1. Desnutrição Proteico-Energética. 2. Assistência Perioperatória.
3. Anastomose Cirúrgica. 4. Cicatrização de Feridas. 5. Rats. I. Título

Aos meus pais, pelo carinho, incentivo, compreensão e, principalmente, pelo exemplo, que tentarei seguir pelo resto da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A elaboração deste trabalho só se tornou possível devido à colaboração de inúmeras pessoas. Nomear a todos seria impossível. No entanto, gostaria de registrar aquelas pessoas e/ou instituições que estiveram mais diretamente vinculadas à realização desta dissertação, aos quais agradeço:

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos L. Campos, Professor Titular do Departamento de Cirurgia, orientador desta dissertação, pela confiança, constante incentivo, dedicação e auxílio; contribuindo de forma essencial desde a primeira idéia até a concretização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Júlio Cezar U. Coelho, Professor Titular do Departamento de Cirurgia, pelo constante incentivo e principalmente pela confiança em todos os momentos, contribuindo sempre de forma fundamental para a minha formação acadêmica.

Ao Prof. Dr. Fernando Hintz Greca, orientador em meus primeiros passos na pesquisa e grande incentivador da minha carreira acadêmica.

Ao acadêmico de Medicina da Universidade Federal do Paraná, Danilo Aedo, pelo importante auxílio durante a fase experimental.

Aos amigos e colegas Marcelo Ferreira e Alessandra Borges pelas contribuições em várias fases deste trabalho.

Ao amigo Eros Luiz de Sousa, pela participação essencial nos primeiros passos deste trabalho.

À Dra. Anne Karoline Groth, pelo grande auxílio, participação e incentivo em todas as fases deste trabalho.

À Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade de realizar meus cursos de graduação e de pós-graduação.

À CAPES pelo incentivo à pesquisa em nosso país.

“A alegria está na luta, na tentativa, no sofrimento envolvido. Não na vitória propriamente dita.”
(Gandhi)

SUMÁRIO

LISTA DE GRÁFICOS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 OBJETIVO.....	4
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	5
2.1. CICATRIZAÇÃO DAS FERIDAS.....	6
2.2. PROCESSO CICATRICIAL NO TRATO GASTRINTESTINAL E IMPORTÂNCIA DO COLÁGENO.....	7
2.2.1. Estudos Clínicos.....	9
2.2.2. Estudos Experimentais.....	10
2.3. DESNUTRIÇÃO E CICATRIZAÇÃO.....	11
2.3.1. Estudos Clínicos.....	12
2.3.2. Estudos Experimentais.....	14
2.4. NUTRIÇÃO PRÉ-OPERATÓRIA.....	18
2.4.1. Estudos Clínicos.....	18
2.4.2. Estudos Experimentais.....	20
2.5. MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES INTESTINAIS.....	21
2.5.1. Parâmetros Clínicos.....	21
2.5.1.1. Peso.....	21
2.5.1.2. Incidência de óbitos.....	23

2.5.2.	Aderências Intra-abdominais.....	23
2.5.3.	Métodos Mecânicos.....	24
2.5.3.1.	Pressão de ruptura.....	25
2.5.3.2.	Força tênsil de ruptura.....	26
2.5.4.	Método Histológico.....	28
3.	MATERIAL E MÉTODO	31
3.1.	MATERIAL	32
3.2.	MÉTODO	34
3.2.1.	Experimento 1.....	34
3.2.1.1.	Grupos de estudo.....	34
3.2.2.	Experimento 2.....	34
3.2.2.1.	Grupos de estudo.....	34
3.2.3.	Procedimento Cirúrgico.....	35
3.2.4.	Pós-operatório.....	36
3.2.5.	Sacrifício dos Animais.....	37
3.2.6.	Dados Avaliados.....	38
3.2.6.1.	Peso.....	38
3.2.6.2.	Ingestão alimentar média.....	38
3.2.6.3.	Incidência de óbitos.....	39
3.2.6.4.	Aderências intra-abdominais.....	39
3.2.6.5.	Força tênsil de ruptura da anastomose colônica.....	40
3.2.6.6.	Avaliação histológica.....	41
3.2.7.	Análise Estatística.....	44
4.	RESULTADOS	46
4.1.	PESO	47
4.2.	ALBUMINA	49

4.3.	ADERÊNCIAS INTRA-ABDOMINAIS.....	51
4.4.	FORÇA TÊNSIL DE RUPTURA.....	51
4.5.	AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA.....	53
4.6.	CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS DE FORÇA E DENSITOMETRIA DO COLÁGENO.....	55
5.	DISCUSSÃO	57
5.1.	SOBRE O MÉTODO.....	58
5.2.	SOBRE OS RESULTADOS.....	64
5.2.1.	Análise dos Parâmetros de Desnutrição: Peso e Albumina.....	64
5.2.2.	Avaliação da Cicatrização: Parâmetros Clínicos e Aderências.....	66
5.2.3.	Avaliação da Cicatrização: Força Tênsil de Ruptura.....	67
5.2.4.	Avaliação Histológica.....	69
5.3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	72
6.	CONCLUSÕES	73
	REFERÊNCIAS	75

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	CURVA DE VARIAÇÃO DE PESO NOS GRUPOS DESNUTRIDO E CONTROLE.	48
GRÁFICO 2	CURVA DE VARIAÇÃO DE PESO NOS GRUPOS NUTRIÇÃO PRÉ-OPERATÓRIA E CONTROLE.	49
GRÁFICO 3	COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE ALBUMINA ENTRE OS GRUPOS (C, D, PRÉ).	50
GRÁFICO 4	REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DAS MÉDIAS DA FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO E FORÇA DE RUPTURA TOTAL NOS GRUPOS ESTUDADOS (C, D, PRÉ).	53
GRÁFICO 5	REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DO PERCENTUAL DE COLÁGENO TIPO I E III NAS ANASTOMOSES DOS GRUPOS C, D, PRÉ.	55

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	COMPOSIÇÃO DA RAÇÃO PARA RATOS NUVILAB CR1® (NUVITAL).	33
TABELA 2	ÍNDICE DE ADERÊNCIAS DE KNIGHTLY.	39
TABELA 3	VARIAÇÃO DE PESO DOS ANIMAIS (g) DOS GRUPOS C, D E PRÉ.	48
TABELA 4	NÍVEL SÉRICO DE ALBUMINA NO 21º. DIA DE EXPERIMENTO NOS GRUPOS C, D E PRÉ.	50
TABELA 5	ADERÊNCIAS INTRA-ABDOMINAIS, COMPARAÇÃO ENTRE OS PERCENTUAIS DE CADA GRUPO (C, D E PRÉ).	51
TABELA 6	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DA FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT) E FORÇA DE RUPTURA TOTAL (FRT) NO 5º. DIA DE PÓS-OPERATÓRIO.	52
TABELA 7	COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PERCENTUAL DE COLÁGENO TIPOS I E III E ÍNDICE DE MATURAÇÃO DE COLÁGENO (IMaC) ENTRE OS GRUPOS (C, D E PRÉ) NO 5º. DIA DE PÓS-OPERATÓRIO.	54
TABELA 8	COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS DE FORÇA E PARÂMETROS HISTOLÓGICOS (COLÁGENO TIPO I E IMaC).	56

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	GAIOLA METABÓLICA.	33
FIGURA 2	ESQUEMA DO MÉTODO EXPERIMENTAL.	35
FIGURA 3	ASPECTO DO CÓLON APÓS REALIZAÇÃO DAS ANASTOMOSES PROXIMAL (A) E DISTAL (B).	37
FIGURA 4	ASPECTO DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS NO MOMENTO DO SACRIFÍCIO. A – ANASTOMOSE PROXIMAL; B – ANASTOMOSE DISTAL.	38
FIGURA 5	MÁQUINA DE TRAÇÃO.	40
FIGURA 6	PEÇA DA ANASTOMOSE COLÔNICA ABERTA NO SENTIDO LONGITUDINAL PARA FIXAÇÃO E ANÁLISE HISTOLÓGICA.	43
FIGURA 7	FOTOMICROGRAFIA (20x) CORADA POR <i>PICROSIRIUS</i> DEPOIS DA POLARIZAÇÃO DA LUZ ILUSTRANDO DOIS SUBTIPOS DE COLÁGENO (A – COLÁGENO TIPO I; B – COLÁGENO TIPO III).	43
FIGURA 8	DEMONSTRAÇÃO DO APLICATIVO <i>IMAGE PRO-PLUS</i> VERSÃO 4.5 UTILIZADO PARA A ANÁLISE DA DENSITOMETRIA DO COLÁGENO.	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

C	- Grupo controle
D	- Grupo desnutrido
dl	- Decilitro
EP	- Erro-padrão
<i>et al</i>	- e colaboradores
FMT	- Força máxima de tração
FRT	- Força de ruptura total
g	- Grama
IMaC	- Índice de maturação do colágeno
INMETRO	- Instituto Nacional de Pesos e Medidas
Kgf	- Quilograma-força
M	- Média
min	- minuto
ml	- Mililitro
mg	- Miligramas
MTS	- <i>Maximal Tensile Strength</i>
p	- Nível de significância estatística
PRÉ	- Grupo nutrição pré-operatória
RNA	- Ácido Ribonucléico
RTMI	- Resistência Mínima à Tração
RTS	- <i>Rupture Tensile Strength</i>
vs.	- versus
° C	- Graus Celsius
=	- Igual a
±	- Mais ou menos
®	- Marca registrada
%	- Porcentagem
<	- Menor que

RESUMO

Introdução: Desnutrição afeta adversamente a cicatrização de anastomoses gastrintestinais. O objetivo deste estudo é avaliar os efeitos da nutrição pré-operatória na cicatrização de anastomoses colônicas experimentais em ratos desnutridos.

Material e Método: Foram utilizados 80 ratos Wistar adultos com peso médio de $325,64 \pm 4,54$ g. Após uma semana de aclimação os ratos foram divididos aleatoriamente em 4 grupos: i. Grupo controle (C1), alimentados com ração padrão *ad libitum* durante 21 dias; ii. Grupo desnutrido (D), alimentados 50% da média de ingestão alimentar do grupo controle durante 21 dias; iii. Grupo nutrição pré-operatória (PRÉ), alimentados 50% da dieta do grupo controle durante 21 dias e nutrição pré-operatória com ração padrão *ad libitum* durante 7 dias; iv. Grupo Controle 2 (C2), alimentados com ração padrão *ad libitum* durante 28 dias. Nos dias 22 e 29 do experimento os ratos foram anestesiados e submetidos a 2 secções colônicas, a primeira 5 cm distalmente à válvula íleo-cecal e a segunda 6 cm distalmente à primeira secção. O cólon foi reconstruído por meio de 2 anastomoses término-terminais, camada única, invertida, com 8 pontos interrompidos (Mononylon 6-0). Após a cirurgia os ratos foram mantidos em gaiolas individuais e tiveram livre acesso à água e à ração. Os ratos foram sacrificados no 5º. dia de pós-operatório. As 2 anastomoses colônicas foram ressecadas e preservadas aleatoriamente em solução salina 0,9% ou formalina 10%, para avaliação da força máxima de tração (FMT) e força de ruptura total (FRT), e análise histológica, respectivamente. Análise estatística foi realizada por meio dos testes t de Student, Fisher e Newman-Keuls. **Resultados:** A FMT foi inferior no grupo desnutrido (D) em relação ao grupo controle (C) ($0,09 \pm 0,01$ vs. $0,15 \pm 0,02$ kgf; $p < 0,05$). A média da FRT também foi menor no grupo D em relação ao grupo C ($0,05 \pm 0,00$ vs. $0,10 \pm 0,01$; $p < 0,05$). Da mesma forma, a análise da Densitometria do colágeno demonstrou menor porcentagem de colágeno tipo I (maduro) no grupo D em relação ao grupo C ($3,83 \pm 0,35$ vs. $6,13 \pm 0,39$; $p < 0,05$). O grupo nutrição pré-operatória (PRÉ) mostrou aumento da FMT em relação ao grupo D ($0,09 \pm 0,01$ vs. $0,15 \pm 0,01$; $p < 0,05$). O grupo PRÉ apresentou valores de FMT semelhantes aos do grupo C (C) ($0,15 \pm 0,01$ vs. $0,15 \pm 0,02$ kgf, $p = 0,91$). Com relação à FRT, os índices do grupo PRÉ e C também foram semelhantes ($0,09 \pm 0,01$ vs. $0,10 \pm 0,01$; $p = 0,56$). Entretanto, o grupo PRÉ apresentou média de colágeno I (maduro) inferior à do grupo C ($4,90 \pm 0,36$ vs. $6,13 \pm 0,39$). **Conclusão:** A desnutrição causa diminuição da FMT e da porcentagem de deposição de colágeno maduro no 5º. dia de pós-operatório em anastomoses colônicas. A nutrição pré-operatória durante 7 dias aumentou a FMT e FRT, assim como a porcentagem de deposição de colágeno, alcançando valores semelhantes aos do grupo controle.

DESCRITORES

Desnutrição Protéico-Energética; Assistência Perioperatória; Anastomose Cirúrgica; Cicatrização de Feridas; Ratos.

ABSTRACT

Background: Malnutrition influences the healing of gastrointestinal anastomosis. We hypothesized that the healing of colonic anastomosis is decreased by malnutrition and it may be improved by pre-operative nutrition. **Materials and Methods:** Eighty adult male Wistar rats, weighing 325.64 ± 4.54 gm, were housed in individual cages and after one week of acclimation were randomly divided into 4 groups that were subjected to two colonic anastomoses: i. Control rats (C1), fed regular chow diet *ad libitum* for 21 days; ii. Malnourished pair-fed rats (D), fed 50% of the average of the ingested food by the control rats for 21 days; iii. Pré-operative nutrition rats (PRÉ) that were fed 50% diet for 21 days and then received pre-operative nutrition with regular chow diet *ad libitum* for 1 week; and iv. Control rats (C2), fed *ad libitum* for 28 days. On the 21 or 28 days the rats were anesthetized and subjected to 2 colonic transections, one at 5 cm distal to the ileo cecal valve and another 6 cm distal from the first transection. Colon continuity was restored by 2 end-to-end, single layer, inverted anastomosis with 8 interrupted sutures (6-0 nylon). After the operation, the rats were kept in individual cages and had free access to water and rat chow. The rats were killed on operative day 5, and the 2 colonic anastomosis of each animal were resected and stored in 0.9% saline and 10% formalin for maximal tensile strength (MTS) and rupture tensile strength (RTS), and histological (Collagen Densitometry) studies, respectively. Student's t-tests, Fisher and Newman-Keuls were used for statistical analysis. **Results:** MTS was significantly lower in the malnourished group (D) compared to the control (C) group (0.09 ± 0.01 vs. 0.15 ± 0.02 kgf; $p < 0.05$). RTS was also lower in group D compared to controls (C) (0.05 ± 0.00 vs. 0.10 ± 0.01 ; $p < 0.05$). The collagen densitometry analysis demonstrated lesser percent area of type I (mature) in the D group compared to controls (C) (3.83 ± 0.35 vs. 6.13 ± 0.39 ; $p < 0.05$). The pre-operative nutrition rats (PRE) showed an increased MTS compared to the group D (0.09 ± 0.01 vs. 0.15 ± 0.01 ; $p < 0.05$) and similar values as the control rats (C) in the MTS (0.15 ± 0.01 vs. 0.15 ± 0.02 kgf $p = 0.91$) and RTS (0.09 ± 0.01 vs. 0.10 ± 0.01 ; $p = 0.56$). However, the mature collagen was decreased when compared to controls (4.90 ± 0.36 vs. 6.13 ± 0.39). **Conclusion:** Malnutrition decreases the total rupture strength and the percentage area of mature collagen deposition at the anastomosis site on PO day 5. Pre-operative re-feeding for 7 days increases the MTS and RTS, as well as the percentage area of mature collagen approaching similar values as the control group.

KEY-WORDS

Protein Energy Malnutrition; Perioperative Care; Anastomosis; Healing; Ratos.

1. INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

O comprometimento do processo cicatricial nas anastomoses intestinais pode resultar em deiscência, fístula e peritonite fecal. A incidência destas complicações varia de 0 a 35%, e sua ocorrência pode triplicar a mortalidade a aumentar consideravelmente a morbi-mortalidade dos pacientes submetidos a anastomoses de cólon (HENDRIKS e MASTBOOM, 1990; GOLIGHER, GRAHAM e DE BOMBAL, 1970; GENZINI, D'ALBUQUERQUE, MIRANDA, SCAFURI, DE OLIVEIRA e SILVA, 1992; GER e RAVO, 1984).

A ocorrência de deiscência anastomótica leva, de maneira geral, ao aumento de duas vezes na duração do internamento, de três vezes no índice de mortalidade perioperatória e, conseqüentemente, à elevação considerável dos custos do tratamento (KORUDA e ROLANDELLI, 1990; CAMPOS, MEGUID e COELHO, 1996).

A cicatrização da anastomose colônica é influenciada por vários fatores, incluindo: preparo intestinal, técnica cirúrgica e estado nutricional do paciente. Devido à multifatorialidade do processo de cicatrização nas anastomoses colônicas, torna-se extremamente difícil investigar os mecanismos de ocorrência e, conseqüentemente, de prevenção da deiscência colônica no contexto clínico. Assim sendo, diversos estudos têm procurado desenvolver modelos animais, visando ao estudo da cicatrização colônica e da patogênese da falência do processo cicatricial (BLOMQUIST, JIBORN e ZEDERFELDT 1984; BRASKEN, RENVALL e SANDBERG 1991; GARCIA-OLMO, PAYA, GARCIA-OLMO, 1996).

Inicialmente, pesquisas foram direcionadas ao estudo dos fatores de ordem técnica capazes de interferir na cicatrização. Estas pesquisas contribuíram com alguns conceitos tais como a importância da inversão ou eversão das paredes intestinais para melhorar a união das bordas, a necessidade de inclusão da submucosa nos pontos, por ser esta camada rica em colágeno, além da importância da ausência de tensão e boa vascularização na linha de sutura (GETZEN e HOLLOWAY, 1966; CRONIN, JACKSON e DUNPHY, 1968; RAVO, 1988). Mais recentemente houve crescente interesse para o estudo dos efeitos dos agentes farmacológicos sobre a cicatrização,

tanto benéficos quanto deletérios. Dentre estas substâncias podem ser citados os antiinflamatórios hormonais e não-hormonais, antineoplásicos, entre outros (MANTZOROS, KANELLOS, DEMETRIADES, CHRISTOFORIDIS, KANELLOS, PRAMATEFTAKIS, ZARABOUKAS, BETSIS, 2004; CAHILL, SHEEHAN, SCANLON, MURRAY, KAY e REDMOND, 2004; VIZZOTTO JUNIOR, 2001; BONIN, CAMPOS, COELHO, MATIAS, MALAFAIA, JONASSON, 2005).

É amplamente reconhecido que a desnutrição afeta adversamente a cicatrização, tanto em estudos clínicos como experimentais (IRVIN 1978). Estudos sobre o estado nutricional em pacientes cirúrgicos sugerem que desnutrição e perda de peso são bastante comuns (HILL, BLACKETT, PICKFORD, BURKINSHAW, YOUNG, WARREN, SCHORAH e MORGAN 1977). Tanto a desnutrição prolongada, como a ingestão nutricional inadequada por curtos períodos prejudica a cicatrização das anastomoses (DEMETRIADES, BOTSIOS, KAZANTSIDOU, SAKKAS, TSALIS, MANOS e DADOUKIS, 1999; LAW e ELLIS, 1989). LAW e ELLIS, em 1989 e WARD, DANZI, LEWIN, RENNIE e CLARK, em 1982, demonstraram que a desnutrição protéica produzida pela restrição dietética por curtos períodos está associada com prejuízos na cicatrização em estudos experimentais.

Estudos têm buscado avaliar a influência da terapia nutricional na cicatrização de anastomose de cólon. Foi observado o uso de terapia nutricional com dietas contendo nutrientes com capacidades específicas de preservar a função estrutural e metabólica do enterócito e do colonócito ou imuno-moduladores são capazes de promover estímulo do processo cicatricial (CAMPOS, MUCERINO, WAITZBERG, LOGULO, EL IBRAHIM, NADALIN e HABR-GAMA, 1994; ROLANDELLI, KORUDA, SETTLE e ROMBEAU, 1986; DA COSTA, CAMPOS, COELHO, DE BARROS, MATSUMOTO, 2003). Entretanto, a maioria dos experimentos avaliou animais na ausência de deficiência nutricional (KIYAMA, WITTE, THORNTON, BARBUL, 1998; CIHAN, OGUZ, ACUN, UÇAN, ARMUTCU, GÜREL E ULUKENT, 2004; DA COSTA *et al.*, 2003). Não foram identificados, na literatura, estudos que tenham avaliado os efeitos de nutrição pré-operatória em ratos previamente desnutridos submetidos à anastomose colônica.

1.1. OBJETIVO

- 1) Avaliar os efeitos da desnutrição na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos Wistar no 5º. dia de pós-operatório, mediante uso de estudo tensiométrico e de deposição de colágeno.
- 2) Avaliar a influência da nutrição pré-operatória na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos Wistar previamente desnutridos, no 5º. dia de pós-operatório, mediante estudo tensiométrico e da deposição do colágeno.

2. REVISÃO DE LITERATURA

REVISÃO DA LITERATURA

A presente revisão de literatura foi dividida didaticamente nos seguintes aspectos: cicatrização das feridas, processo cicatricial no trato gastrointestinal e importância do colágeno, desnutrição e cicatrização, nutrição pré-operatória e métodos de avaliação da cicatrização nas anastomoses intestinais.

2.1. CICATRIZAÇÃO DAS FERIDAS

A cicatrização é o processo de reparação comum a todas as feridas, que resulta da interação de uma série de eventos celulares, fisiológicos e bioquímicos. Existem três etapas fundamentais para o fenômeno da cicatrização: fase inflamatória, fase de fibroplasia e fase de maturação.

O processo de cicatrização inicia-se com a ruptura da integridade tecidual, que estimula início da fase inflamatória. Esta fase é caracterizada por breve período de vasoconstrição local promovida pela liberação de mediadores vasoativos, como tromboxano A₂. A cascata da coagulação é ativada e a formação da rede de fibrina produz uma matriz provisória, que facilita a migração de fibroblastos e células endoteliais para a ferida (REED e CLARK, 1985).

Após a vasoconstrição inicial, substâncias como histamina, serotonina, citocinas e prostaglandinas deflagram vasodilatação tecidual local, causando aumento da permeabilidade capilar, com extravasamento de plasma e macromoléculas, resultando em edema celular.

As primeiras células a migrarem para a ferida são os leucócitos polimorfos nucleares (PMN) (surgem cerca de 3 horas após a lesão tecidual). Estas células promovem a remoção dos tecidos desvitalizados e dos microrganismos presentes na ferida. Os PMN liberam substâncias (interleucinas, fatores de crescimento), que atraem os macrófagos e monócitos, que complementam a remoção dos resíduos e promovem o início do processo de reparação (WAHL e WAHL 1992; JOHNSTONE e FARLEY, 2005). Macrófagos também secretam fatores de crescimento que

influenciam de forma direta as fases subseqüentes de proliferação e diferenciação tecidual.

A fase de fibroplasia é caracterizada por proliferação de fibroblastos, angiogênese e epitelização; todos estes processos são decorrentes da multiplicação celular e sofrem influência de fatores angiogênicos e de crescimento secretados pelas células inflamatórias (BANDA, KNIGHTON, HUNT e WERB, 1982), e culmina com a formação do tecido de granulação, que consiste em coleção de elementos celulares, incluindo fibroblastos, células inflamatórias, endoteliais e componentes da matriz extracelular (fibronectina, glicosaminoglicanas e colágeno) (BANDA *et al.*, 1982; JULIANO e HASKILL, 1993; HURLEY, EDWARDS E HAM, 1970; LUNDBERG e GERDIN, 1984; ROSS e ODLAND, 1968).

A maturação das feridas ocorre mediante participação intensa dos miofibroblastos que proporcionam contração da lesão e também por meio da formação de pontes entre as fibras de colágeno que leva à formação da cicatriz madura (RUDOLPH, VAN DER BERG e EHRLICH 1992).

2.2. PROCESSO CICATRICIAL NO TRATO GASTRINTESTINAL E IMPORTÂNCIA DO COLÁGENO

A maioria das etapas do processo de cicatrização é similar em todos os tecidos, tais como a resposta inflamatória a lesão, a deposição de colágeno e a maturação da ferida. Entretanto, existem variações entre os tecidos, que podem alterar a velocidade e o resultado final da cicatrização.

O trato gastrintestinal possui características peculiares tais como: presença de múltiplas camadas em sua arquitetura histológica, grande quantidade de microrganismos em seu lúmen, presença de camada serosa na proteção da linha de sutura e presença de suprimento sangüíneo característico; que ocasionam diferenças no seu processo de cicatrização em relação aos demais órgãos. É importante ressaltar o papel da camada submucosa, que tem participação fundamental nas fases iniciais da cicatrização do trato gastrintestinal, pois é a camada que ancora as suturas cirúrgicas.

Além disso, esta camada é composta por tecido conjuntivo frouxo, que contém a maioria dos componentes da matriz extracelular (THORNTON e BARBUL, 1997).

Colágeno é a proteína mais abundante no organismo dos mamíferos e representa 30% do total das proteínas do homem. A estrutura do colágeno é formada por 3 cadeias polipeptídicas configuradas em hélice e unidas por pontes de hidrogênio, denominadas cadeias alfa, sendo cada uma delas codificadas por um gene, que dá origem a diversos tipos dessa proteína. Cada cadeia alfa é formada por cerca de 1000 aminoácidos (PROCKOP, KIVIRIKKO, TUDERMAN e GUZMAN, 1979a, 1979b).

Existem quase duas dezenas de tipos de colágeno, sendo que o colágeno tipo I, ou maduro, (sintetizado pelos fibroblastos), é o tipo mais freqüente, e é predominante em ossos e tendões. Colágeno tipo III é mais comumente encontrado em tecidos moles, como vasos sanguíneos, derme e fáscia. A matriz extracelular do cólon é composta principalmente de colágeno tipo I, com menores porcentagens de colágeno tipo III e V (WITTE e BARBUL, 1997).

A matriz extracelular é resultante do balanço entre a deposição e a degradação de colágeno. A degradação de colágeno é muito ativa durante o processo inflamatório. A digestão do colágeno é realizada por collagenases específicas. As collagenases conhecidas dividem-se em séricas (elastase, catepsina C e proteinase neutra) e as teciduais (metaloproteinases). A atividade das collagenases é controlada por citocinas liberadas principalmente por células inflamatórias, endoteliais, fibroblastos e queratinócitos.

Na cicatrização de anastomoses intestinais também ocorre esta degradação de colágeno maduro. Devido ao consumo do colágeno maduro existente na camada submucosa no período pós-operatório precoce, a força tênsil da anastomose depende das suturas ancoradas na camada submucosa, rica em colágeno. Collagenases intersticiais têm sido implicadas como possíveis fatores contribuintes para a diminuição precoce na força de ruptura das anastomoses gastrintestinais (JONSSON e HÖGSTRÖM, 1991; OXLUND, CHRISTENSEN, SEYER-HANSEN, ANDREASSEN, 1996; MARTENS e HENDRIKS, 1991; MARTENS, HUYBEN E HENDRIKS 1992).

2.2.1. Estudos Clínicos

GRAHAM, DRUCKER, DIEGELMANN, ELSON (1987), avaliaram células intestinais humanas em cultura e observaram que além dos fibroblastos, células musculares lisas também produzem colágeno no trato gastrointestinal.

MARTENS, HUYBEN, HENDRIKS (1992) também avaliaram células humanas em cultura e observaram que a síntese de colágeno pelos fibroblastos na pele e no trato gastrointestinal parecem ser afetados de forma diferente pelos fatores que regulam a cicatrização tais como interleucina-1, fator de necrose tumoral alfa, interferon gama, entre outros.

GRAHAM, DIEGELMANN, ELSON, LINDBLAD, GOTSCHALK, GAY e GAY (1988) avaliaram a quantidade de colágeno presente no intestino de pacientes com doença de Chron e em controles. Os autores observaram que no grupo controle, representando indivíduos normais, a maior porcentagem de colágeno é do tipo I (68%), seguida por colágeno tipo III (20%) e tipo V (12%).

STUMPF, KLINGE, WILMS, ZABROCKI, ROSCH, JUNGE, KRONES e SCHUMPELICK (2005) avaliaram a influência de distúrbios da matriz extracelular nas fistulas anastomóticas em cirurgias colorretais. Cento e dezenove pacientes submetidos à anastomose colorretal tiveram sua evolução pós-operatória avaliada prospectivamente. A análise do colágeno foi realizada com a coloração de *picrosirius* e microscopia polarizada. Foi evidenciado que a razão entre colágeno tipo I e colágeno tipo III, usada como um indicador de qualidade tecidual, foi significativamente inferior na parede intestinal de pacientes que desenvolveram fistula anastomótica em comparação aos pacientes com cicatrização não complicada.

LAPIERE, NUSGENS e PIERARD (1977) estudaram tipos de colágeno extraídos da pele por meio de precipitação de sais e cromatografia. Os autores observaram a formação de bandas espessas de colágeno tipo I. Por outro lado, os autores reportaram a presença de fibras finas de colágeno tipo III, associadas à formação de bandas de tamanho intermediário. Os autores sugerem que a relação entre

os tipos de colágeno e arquitetura das fibras tem papel importante na propriedade mecânica dos tecidos conjuntivos em condições normais e patológicas.

2.2.2. Estudos Experimentais

HASTINGS, VAN WINKLE, BARBER, HINES, NICHOLS (1975) estudando cães demonstraram diferenças metabólicas entre a cicatrização do trato gastrointestinal e da pele.

MARTENS e HENDRIX (1991) demonstraram que a cicatrização do cólon em ratos caracteriza-se por força da anastomose diminuída nos primeiros dias de pós-operatório, além disso, os níveis de colágeno têm grandes alterações. Na cicatrização colônica normal inicialmente é observada uma diminuição da concentração de colágeno, causada pela degradação de colágeno pré-formado, esta fase transitória é seguida por aumento considerável da síntese de colágeno .

CRONIN, JACKSON e DUNPHY (1968) compararam a cicatrização de feridas cutâneas e anastomoses colônicas em ratos. Os autores observaram que o ganho da força em feridas intestinais em condições normais é muito mais rápido do que em feridas cutâneas.

HERRMANN, WOODWARD e PULASKI (1964) também avaliaram a cicatrização em ratos e observaram que a seqüência de eventos que ocorre na cicatrização das anastomoses digestivas é semelhante à que ocorre nos demais tecidos, sendo que a fase inflamatória estendeu-se até o quarto dia, a fase de fibroplasia até o décimo quarto e, a partir daí, a fase de maturação.

BRASKEN, RENVALL, SANDBERG (1991) estudaram a expressão genética do colágeno e fibronectina em ratos submetidos a anastomoses intestinais e observaram que a expressão genética de colágeno tipo III precede a de colágeno tipo I, e ambos alcançam síntese máxima no 7º. dia de pós-operatório. Os autores também sugerem que o aumento da força tênsil tem maior relação com a concentração de colágeno tipo I.

JIBORN, AHONEN e ZEDERFELDT (1978, 1980), mediante utilização de hidroxiprolina radio marcada, avaliaram o padrão de cicatrização das anastomoses

colônicas em ratos. Observaram que há intenso ciclo de síntese e degradação das fibras colágenas no início do processo de cicatrização da anastomose, com predomínio da degradação até o 4º. dia de pós-operatório. Por volta do 7º. dia de pós-operatório o processo de síntese sobrepuja o de degradação. Observaram também que este processo cíclico de síntese e degradação do colágeno ocorre não só na área da anastomose, mas também nos segmentos peri-anastomóticos, principalmente no segmento proximal.

OXLUND *et al.*, em 1996, avaliaram as alterações temporais da deposição de colágeno nas anastomoses colônicas e em feridas incisionais cutâneas em ratos. A avaliação do metabolismo do colágeno foi realizada por meio da administração intravenosa de prolina marcada, estimulando-se a deposição de colágeno por milímetro da linha de ferida. A quantidade de colágeno na anastomose foi estimada pela quantidade de hidroxiprolina. Os autores observaram aumento substancial na deposição de colágeno no 2º. dia de pós-operatório, a qual alcançou o pico máximo no 6º. dia, permanecendo relativamente alta até o dia 12. A deposição de colágeno no cólon foi 10 vezes superior à deposição nas feridas cutâneas incisionais.

2.3. DESNUTRIÇÃO E CICATRIZAÇÃO.

JELLIFE (1966) definiu desnutrição como um estado mórbido resultante da deficiência ou do excesso, relativo ou absoluto, de um ou mais nutrientes essenciais. As causas de desnutrição são variadas, e incluem doença primária (neoplasias, tuberculose), procedimentos que previnem o paciente de receber ingestão nutricional adequada por tempos prolongados (ex: cirurgia) ou deficiência de ingestão nutricional.

A deficiência de carboidratos, proteínas e gorduras é freqüentemente encontrada na prática clínica, e o termo desnutrição protéico-energética foi criado para definir esta deficiência nutricional (HILL, 1992).

Nas últimas quatro décadas têm ocorrido uma maior conscientização no meio médico sobre a prevalência da desnutrição em pacientes hospitalizados. Estudos demonstram que 20 a 60 % dos pacientes admitidos no hospital apresentam algum grau de deficiência nutricional (HILL, BLACKETT, PICKFORD, BURKINSHAW,

YOUNG, WARREN, SCHORAH e MORGAN, 1977; MCWHIRTER e PENNINGTON, 1994; BRAUNSCHWEIG, GOMEZ e SHEEAN, 2000; WAITZBERG, CAIAFFA e CORREIA, 2001; CORREIA e CAMPOS, 2003; STRATTON, HACKSTON, LONGMORE, DIXON, PRICE, STROUD, KING e ELIA, 2004). Estudos sobre o estado nutricional em pacientes cirúrgicos sugerem que a desnutrição protéico-energética e perda de peso de 11,5% são bastante comuns (HILL *et al.*, 1977).

Desnutrição está associada à cicatrização inadequada. A fase inflamatória é prolongada e a fase de fibroplasia é prejudicada, o que resulta em redução da proliferação de fibroblastos, da síntese de proteoglicanas e colágeno, da neoangiogênese e do remodelamento da ferida (RUBERG, 1984; HAYDOCK e HILL, 1986; MORA, 1999).

A deiscência de anastomoses colônicas ainda é complicação pós-operatória importante e potencialmente fatal. O estado nutricional do paciente é um dos fatores mais importantes que afetam a cicatrização do trato gastrointestinal. Pacientes submetidos a cirurgias gastrointestinais têm risco aumentado para desnutrição, uma vez que apresentam ingestão nutricional inadequada, tanto pré como pós-operatória além de estresse aumentado e subsequente aumento da taxa metabólica (WARD, 2003; MCWHIRTER e PENNINGTON, 1994).

2.3.1. Estudos Clínicos

HAYDOCK e HILL (1986), em estudo, clínico avaliaram a resposta cicatricial por meio da medida da deposição de hidroxiprolina em pacientes com vários níveis de desnutrição. Foi evidenciada diminuição da deposição de hidroxiprolina (índice quantitativo do colágeno) em pacientes desnutridos, comparados a pacientes com estado nutricional normal.

Pacientes com doenças pré-operatórias agudas ou redução na ingestão nutricional no período pré-operatório imediato também demonstram fibroplasia inadequada (GOODSON, LOPEZ-SARMIENTO, JENSEN, WEST, GRANJA-

MENA, CHAVEZ-ESTRELLA, 1987). Estudos clínicos demonstraram que a intervenção nutricional por curtos períodos e não necessariamente em dose total, tanto por via enteral ou parenteral, pode reverter ou prevenir a diminuição da deposição de colágeno observada na vigência de desnutrição ou no jejum pós-operatório (HAYDOCK e HILL, 1987; SCHROEDER, GILLANDERS, MAHR, HILL, 1991).

Apesar de em animais ser necessário tempo prolongado de desnutrição protéico-energética para prejudicar as respostas de cicatrização, em humanos, a desnutrição calórica protéica mesmo que modesta pode prejudicar a fibroplasia (GOODSON *et al*, 1987).

IRVIN e GOLIGHER (1973) a partir de observações clínicas sugeriram que a cicatrização das anastomoses colônicas pode ser afetada pela desnutrição. Os autores demonstraram que a incidência de fístulas anastomóticas é estatisticamente superior em pacientes com baixos níveis de proteína sérica e albumina.

SCHROCK, DEVENEY e DUNPHY em 1973, encontraram incidência de fístulas de 6,5% em pacientes com deficiência nutricional, comparado com índice de 4,2% em pacientes com nutrição adequada, entretanto, os autores não relataram significância estatística.

GOLUB, GOLUB, CANTU e STEIN em 1997 realizaram estudo com análise multivariada dos fatores que contribuem para as fístulas de anastomoses intestinais. Os autores identificaram apenas 6 fatores preditivos de fístulas intestinais, incluindo: uso de corticosteróides, obstrução intestinal, peritonite, doença pulmonar obstrutiva crônica, transfusão de sangue intra-operatória maior que 2 unidades de concentrado de hemáceas e níveis de albumina sérica menores do que 3,0 g/dL. Neste estudo pacientes com níveis de albumina inferiores a 3,0 g/L apresentaram incidência de deiscência anastomótica de 6,9%, comparado com índice de 2,8% em pacientes com níveis séricos superiores. Mais recentemente, LUNA-PEREZ, RODRIGUEZ-RAMIREZ, GUTIERRES DE LA BARRERA e LABASTIDA (2002) confirmaram os achados de GOLUB *et al.*, reportando que albumina inferior a 3,0 g/L é fator de risco adverso para o desenvolvimento de fístulas anastomóticas.

2.3.2. Estudos Experimentais

É possível induzir experimentalmente estados de deficiência calórica ou energética puras. Estudos experimentais em ratos demonstraram que a redução da ingestão alimentar em 50% leva à diminuição da síntese de colágeno, da deposição de proteínas da matriz e da formação de tecido de granulação (YUE, 1986; YOUNG, 1988).

ZAIZEN, FORD, COSTIN e ATKINSON (1990a) estudaram a cicatrização de laparotomias medianas. Ratos nutridos, desnutridos e desnutridos que receberam hormônio de crescimento no pré-operatório (3 dias) e 5 dias após a cirurgia, foram comparados por meio de análise de força de explosão. A desnutrição foi induzida pelo uso de dieta hipoprotéica (5,5% de proteína) durante oito semanas. Após a laparotomia mediana, todos os animais receberam dieta padrão. Os autores demonstraram concentrações de albumina e pré-albumina inferiores no grupo desnutrido no dia da cirurgia. No 6º. dia de pós-operatório, a força de explosão foi significativamente superior nos animais desnutridos que receberam hormônio de crescimento em comparação aos ratos desnutridos. No 14º. dia de pós-operatório, a força de explosão foi semelhante nos três grupos. Em estudos subsequentes, ZAIZEN, FORD, COSTIN e ATKINSON (1990b), utilizaram o mesmo protocolo de dieta hipoprotéica por 8 semanas e estratificaram os ratos em 3 grupos: 1) desnutridos, 2) desnutridos com administração de hormônio de crescimento por 5 dias no pós-operatório, e 3) desnutridos re-alimentados com dieta padrão durante 3 dias antes da cirurgia; um quarto grupo de animais com dieta normal durante todo o experimento foi utilizado como controle. Todos os animais receberam dieta padrão no pós-operatório. A avaliação no 6º. pós-operatório demonstrou índices de força de explosão maiores nos animais desnutridos e realimentados, equivalente nos controles e desnutridos com administração de hormônio de crescimento, e menor nos desnutridos.

EMERY e SANDERSON (1995) promoveram desnutrição em ratos por meio da administração de apenas 58% da ingestão alimentar do grupo controle de ratos pareados durante 7 dias antes do procedimento cirúrgico. A análise tensiométrica e a avaliação da quantidade de colágeno foram realizadas no 7º. dia de pós-operatório.

Entretanto, não foi demonstrada diferença significativa na análise da força tênsil ou da quantidade de colágeno entre os grupos controle e desnutrido.

SCHÄFFER, TANTRY, AHRENDT, WASSERKRUG e BARBUL (1997) avaliaram os efeitos da desnutrição protéico-energética aguda sobre a cicatrização de feridas cutâneas. Sete dias antes do procedimento cirúrgico, o grupo de estudo (desnutrido) foi submetido à restrição da dieta alimentar, recebendo apenas 50% da média da ingestão alimentar do grupo controle. Os animais foram sacrificados 10 dias após a cirurgia. O grupo de animais desnutridos apresentou perda de peso de $10,4 \pm 0,8\%$ em relação ao peso inicial no período de 7 dias antes da cirurgia. No pós-operatório, este grupo manteve o peso corporal, apesar da persistência da restrição da ingestão alimentar. Os autores não encontraram diferenças significativas nos valores plasmáticos de albumina nos grupos estudados. Entretanto, foi observada redução significativa (37%) da quantidade de hidroxiprolina e diminuição da expressão de colágeno tipo III no grupo desnutrido em relação ao grupo controle.

IRVIN e HUNT em 1974 estudaram a cicatrização de anastomose colônica em ratos desnutridos. Os autores observaram que a desnutrição afetou o processo de cicatrização colônica em animais que receberam dieta isenta de proteína por 7 semanas. Estes animais perderam 34% do peso corporal e apresentaram diminuição significativa da força tênsil e da quantidade de colágeno nas anastomoses colônicas quando comparados ao grupo controle.

WARD, DANZI, LWEIN, RENNIE e CLARK em 1982, estudaram os efeitos da restrição dietética de proteína na cicatrização de anastomose colônica. Três grupos foram comparados: 1) ratos alimentados com dieta normal antes (7 dias) e após (7 dias) a cirurgia, 2) ratos alimentados com dieta hipoprotéica (apenas 10-15 mg de proteínas/dia) antes da cirurgia e dieta normal após a cirurgia, e 3) ratos alimentados com dieta hipoprotéica antes e depois da cirurgia. O grupo de ratos com dieta hipoprotéica apresentou perda de peso de 12,4%. Os autores demonstraram que o grupo desnutrido apresentou pressão colônica de ruptura estatisticamente inferior à do grupo controle. Em contraste, os ratos que retornaram à dieta normal após a cirurgia apresentaram pressão de ruptura normal.

LAW e ELLIS (1989) estudaram os efeitos de dieta hipoprotéica (0,8 g proteína/dia) sobre a cicatrização de anastomoses colônicas. Os ratos do grupo de estudo receberam dieta hipoprotéica durante 2 semanas e o grupo controle que recebeu dieta padrão durante o mesmo período. O grupo desnutrido apresentou perda de peso de 11,9%. A análise da cicatrização foi realizada por meio da avaliação da pressão de ruptura. Os ratos submetidos a dieta hipoprotéica apresentaram índices de pressão de ruptura estatisticamente inferiores em relação ao grupo controle, principalmente entre o 4º. e o 7º. dias de pós-operatório. Por outro lado, não houve diferença significativa na concentração de hidroxiprolina entre os dois grupos.

Em estudos subsequentes, LAW e ELLIS (1990) avaliaram os efeitos da nutrição parenteral pós-operatória na cicatrização de feridas abdominais e anastomoses colônicas em ratos desnutridos. A desnutrição foi promovida pelo uso de dieta hipoprotéica (0,8 g/ dia) por duas semanas antes do procedimento cirúrgico e 5 dias após a cirurgia. A pressão de ruptura foi avaliada no 5º. dia de pós operatório. Foi demonstrado que ratos alimentados com dietas hipoprotéicas apresentaram aumento significativo da pressão de ruptura nas feridas abdominais e nas anastomoses colônicas após administração de alimentação parenteral pós-operatória.

KARAHASANOGLU, ALTINLI, HAMZAOGLU, PAKSOY, YESILDERE e ALEMDAROGLU em 1998 avaliaram a ação do hormônio de crescimento nas anastomoses de cólon esquerdo em ratos desnutridos em comparação ao grupo controle. A desnutrição foi promovida pela administração de dieta hipoprotéica (1.2 g de proteínas) por 10 dias antes da cirurgia, os grupos controle receberam dieta padrão. Todos os animais foram sacrificados no 4º. dia pós-operatório. Os autores relataram aumento na pressão de ruptura colônica após a administração de hormônio de crescimento em ratos que receberam alimentação normal; entretanto, não houve influência do hormônio de crescimento em ratos que perderam 15% do peso corporal.

IRVIN, em 1976, estudou os efeitos da administração subcutânea do aminoácido essencial metionina na cicatrização de anastomoses colônicas de ratos desnutridos comparados a animais controle. Em seu estudo os ratos desnutridos receberam dieta isenta de proteínas por 7 semanas antes do procedimento cirúrgico; os

ratos do grupo controle receberam dieta normal. A restrição protéica por 7 semanas resultou em redução de 34% no peso corporal, e redução significativa da força tênsil e da quantidade de colágeno nas anastomoses. A suplementação de metionina, entretanto, não demonstrou efeitos sobre os parâmetros de cicatrização avaliados.

Em 1978, IRVIN estudou os efeitos da desnutrição e da hiperalimentação na cicatrização de anastomoses colônicas e incisão cutânea em ratos. Grupos de 10 ratos foram submetidos a uma dieta isenta de proteínas por períodos de 1, 3, 5, 7 ou 8 semanas. No estudo sobre a hiperalimentação os ratos foram divididos em 3 grupos: 1) Grupo teste – recebeu hiperalimentação oral Aminutrin® (fórmula sintética em pó de aminoácidos levogirógenos) durante a sétima semana de restrição de proteína e por 7 dias no pós-operatório; 2) Grupo controle desnutrido – recebeu dieta isenta de proteínas apenas; 3) Grupo controle normal – recebeu dieta regular durante 7 dias antes da cirurgia e por 7 dias no pós-operatório. Ratos que receberam dieta isenta proteínas durante 7 semanas apresentaram média de redução do peso corporal de 37%, e a média de redução de peso corporal nos ratos submetidos à restrição de proteína por 8 semanas foi de 44%. A presença de mudanças significativas na cicatrização apenas ocorreu nos ratos gravemente desnutridos, quando a perda de peso excedeu um - terço do peso corporal normal. A desnutrição grave resultou em redução profunda da força mecânica das feridas abdominais, entretanto, as alterações na força tênsil das anastomoses colônicas foram muito menos evidentes. A terapia com aminoácido resultou em aumento significativo da força tênsil e da quantidade de colágeno das feridas abdominais, entretanto, não demonstrou efeitos na cicatrização colônica.

2.4. NUTRIÇÃO PRÉ-OPERATÓRIA

STUDLEY (1936), em trabalho clássico demonstrou aumento da mortalidade em pacientes submetidos a cirurgia para úlcera duodenal que apresentavam perda maior do que 20% do peso habitual no pré-operatório. Desta forma abriu novas

perspectivas para o melhor preparo pré-operatório dos pacientes com o intuito de reduzir a morbi-mortalidade cirúrgica.

Doenças pré-operatórias breves ou diminuição da ingestão nutricional no período pré-operatório tem demonstrado ter impacto significativo na síntese de colágeno. Estes fatos sustentam o conceito que a ingestão alimentar pré-operatória pode ser mais importante para a cicatrização do que o estado nutricional geral do paciente (WINDSOR, KNIGHT, HILL, 1988).

Há diversos estudos prospectivos e randomizados na literatura que avaliam os efeitos da nutrição pré-operatória nos resultados cirúrgicos, com resultados conflitantes. A seguir serão apresentadas as publicações que resumiram esses resultados da literatura.

2.4.1. Estudos Clínicos

DETSKY, BAKER, O'ROURKE e GOEL (1987) usaram a técnica de metanálise para avaliar a efetividade da nutrição parenteral total pré-operatória (NPT). Foi demonstrada redução no índice de complicações em cirurgias de grande porte e redução de no índice de casos fatais no grupo de recebeu NPT pré-operatória em relação ao grupo que não recebeu terapia nutricional. Por outro lado, foi relatado índices de complicações iatrogênicas maiores. Os autores ressaltam, entretanto, que fatores como amplo intervalo de confiança, grande variação no tratamento entre os estudos, riscos de complicações iatrogênicas secundárias à NPT e potencial *bias* devido a falhas na metodologia dos trabalhos, devem ser considerados na interpretação destes dados. Os autores concluem que até a data do estudo, o uso rotineiro de NPT pré-operatória em pacientes não selecionados submetidos à cirurgia de grande porte não é indicado, entretanto, esta intervenção pode ter utilidade em subgrupos de pacientes de alto risco tais como: 1) pacientes gravemente desnutridos submetidos à cirurgia de grande porte; 2) pacientes bem nutridos que desenvolvem complicações que resultam em períodos de íleo prolongados e ingestão nutricional inadequada e; 3) pacientes bem nutridos submetidos a cirurgias que resultam em períodos prolongados de ingestão inadequada de nutrientes.

KLEIN, KINNEY, JEEJEEBHOY, ALPERS, HELLERSTEIN, MURRAY, TWOMEY (1997) reviram várias publicações e recomendações do Instituto Nacional de Saúde Americano (NIH), da Sociedade Americana de Nutrição Parenteral e Enteral (ASPEN) e da Sociedade Americana de Nutrição Clínica (ASCN). Os autores avaliaram 13 estudos clínicos prospectivos randomizados envolvendo 1250 pacientes submetidos ou não à NPT pré-operatória. Foi observado que os pacientes geralmente receberam NPT por ao menos 7 a 10 dias antes da cirurgia. Nove dos 13 estudos demonstraram que pacientes que receberam NPT pré-operatória apresentaram menor índice de complicações pós-operatórias que nos grupos controles. Entretanto, apenas 5 estudos demonstraram diferença estatisticamente significativa. A NPT proporcionou diminuição de aproximadamente 10% no risco de complicações pós-operatórias. Com relação à nutrição enteral pré-operatória os autores encontraram dois grandes estudos clínicos prospectivos e randomizados que compararam o uso de nutrição enteral pré-operatória com dieta oral *ad libitum*. A maioria dos pacientes estudados tinha o diagnóstico de neoplasia. A incidência geral de complicações foi menor nos pacientes que receberam nutrição enteral (12%) em relação ao grupo controle (30%)

A Sociedade Americana de Nutrição Parenteral e Enteral, ASPEN, por meio do seu *Board of Directors and the Clinical Guidelines Task Force* (2002) estabeleceu roteiro para a administração de nutrição parenteral e enteral em pacientes adultos e pediátricos. Segundo o consenso, a nutrição pré-operatória está indicada em pacientes gravemente desnutridos que irão ser submetidos à cirurgia gastrintestinal de grande porte. A recomendação é de nutrição por período de 7 a 14 dias se a cirurgia puder ser postergada.

Recentemente, um grupo de autores italianos introduziu o conceito de se oferecer nutrição pré-operatória com dietas enriquecidas com nutrientes imunomoduladores a pacientes com pouca desnutrição e que serão submetidos à cirurgia de grande porte. Neste caso a dieta é ofertada com o intuito de modular o sistema imunológico e não somente re-nutrir o paciente (BRAGA, GIANOTTI, NESPOLI, RADAELLI e DI CARLO, 2002).

BRAGA *et al.* (2002) elaboraram estudo para avaliar a efetividade da nutrição pré-operatória em relação à nutrição perioperatória na redução de complicações pós-operatória. Pacientes com perda de peso pré-operatória inferior a 10% e neoplasia gastrointestinal foram divididos aleatoriamente em 3 grupos: 1) suplementação oral com fórmula enriquecida em arginina, ácidos graxos omega-3 e RNA (ácido ribo-nucleico) durante 5 dias antes da cirurgia, e após a cirurgia nenhuma terapia nutricional adicional; 2) o mesmo tratamento pré-operatório do grupo 1 associado a infusão enteral (jejunal) pós-operatória da mesma fórmula enriquecida e; 3) grupo controle, que não recebeu nenhuma nutrição artificial antes ou após a cirurgia. Os autores relataram incidência de complicações pós-operatórias de 13,7% no grupo que recebeu nutrição pré-operatória, 15,8% no grupo que recebeu nutrição perioperatória e 30,4% no grupo controle. Os autores concluem que a terapia nutricional pré-operatória é tão efetiva quanto à administração perioperatória na melhora da evolução clínica.

2.4.2. Estudos Experimentais

DA COSTA, *et al.* (2003) avaliaram a ação da glutamina oral na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos. Os animais eram randomizados para receber 10% de L-glutamina ou 10% de glicina (grupo controle) 7 dias antes da cirurgia e durante o período pós-operatório. Os animais foram avaliados no 3º. e no 8º. dias de pós-operatório. Os autores demonstraram um aumento da força de ruptura total da anastomose e a porcentagem da área de colágeno maduro na anastomose nos ratos que receberam suplementação de glutamina tanto no 3º. Como no 8º. dias de pós-operatório.

2.5. MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES INTESTINAIS

As anastomoses intestinais podem ser avaliadas mediante parâmetros clínicos, mecânicos, histopatológicos e bioquímicos (VIZZOTTO JUNIOR, 2001; DA COSTA *et al.*, 2003; BONIN *et al.*, 2005; FERREIRA, 2004). Outros métodos, são menos

comumente utilizados tais como: parâmetros radiográficos (MANSSON, ZHANG, JEPPSSON, THORLACIUS 2002), microangiográficos (ASZODI e PONSKY, 1984) e de microscopia eletrônica (CHRISTENSEN, CHEMNITZ, CHRISTENSEN, OXLUND, 1995).

2.5.1. Parâmetros Clínicos

A evolução pós-operatória do animal e os achados intra-abdominais após sua morte, seja ela em meio à fase de experimentação ou provocada no término desta para coleta de dados, são parâmetros clínicos que podem ser utilizados. Estes indicadores clínicos refletem a presença de deiscência anastomótica o que, em última análise, se procura avaliar nos experimentos em que se estuda cicatrização de anastomoses colônicas (DA COSTA *et al.*, 2003).

Os dados evolutivos mais comumente explorados são: ganho ou perda de peso e evolução pós-operatória (óbitos). À exploração da cavidade abdominal, os dados mais freqüentemente avaliados são: quantificação e qualificação de aderências pós-operatórias e possíveis complicações anastomóticas (deiscência, abscesso perianastomótico e estenose), entre outros.

2.5.1.1 Peso

A perda de peso pode interferir na evolução das anastomoses intestinais. Decréscimo ponderal durante o período perioperatório sugere certo grau de desnutrição, o que pode acarretar deficiência na cicatrização e, conseqüentemente, maior incidência de complicações anastomóticas.

IRVIN e HUNT (1974) estudaram a cicatrização de anastomose colônica em ratos desnutridos. Os autores observaram que a desnutrição afetou o processo de cicatrização colônica em animais que receberam dieta isenta de proteína por 7 semanas. Estes animais perderam 34% do peso corporal e apresentaram diminuição significativa da força tênsil e da quantidade de colágeno nas anastomoses colônicas quando comparados ao grupo controle. LAW e ELLIS (1990) avaliaram o efeito da

nutrição parenteral sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos com desnutrição protéica. Foram comparados três grupos de animais: dieta normal (A), dieta hipoprotéica (B) e dieta hipoprotéica com nutrição parenteral (C). Os animais receberam as respectivas dietas no período de 2 semanas antes da cirurgia e 5 dias após o procedimento cirúrgico. No pós-operatório, animais do grupo B receberam soluções intravenosas de solução salina com glicose, e animais do grupo C solução de nutrição parenteral. Os grupos desnutridos (B e C) apresentaram perda de peso de 6,5% e 6,4%, respectivamente. Os animais submetidos à dieta hipoprotéica apresentaram diminuição significativa da força de ruptura em relação ao grupo controle.

KARAHASANOGLU *et al.* (1998) realizaram estudo experimental para avaliar o efeito da administração de hormônio de crescimento na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos submetidos à dieta hipoprotéica. Os autores observaram redução de 15% no peso dos ratos alimentados com dieta hipoprotéica até a cirurgia que continuou após o procedimento em torno de 5% ($p < 0,05$). A pressão de ruptura foi menor nos ratos desnutridos em relação aos animais alimentados com dieta com concentração normal de proteínas. Não houve diferença na dosagem de hidroxiprolina entre os grupos. Os autores concluíram que, de maneira indireta, o peso serve como parâmetro clínico na avaliação da cicatrização de anastomoses intestinais.

2.5.1.2. Incidência de óbitos

LEITE, NARESSE, KOBAYASI, MINOSSI, BURINI, CURTI e HOSSNE (1993) avaliaram o efeito da desnutrição na anastomose de cólon distal. Os parâmetros avaliados incluíram: força de ruptura, colágeno tecidual e parâmetros clínicos. Observaram 4 casos de deiscências anastomóticas acompanhadas de óbito no grupo de animais desnutridos, enquanto esta complicação não ocorreu no grupo controle que recebeu dieta com concentração normal de proteínas para a espécie, demonstrando, assim, a relação direta que existe entre deiscência completa, peritonite fecal e óbito.

NARESSE, LEITE, RODRIGUES, ANGELELI, MINOSSI e KOBAYASI (1993), estudaram os efeitos da peritonite fecal induzida na cicatrização de

anastomoses de cólon distal em ratos. Nos animais submetidos à anastomose colônica na vigência de peritonite, houve 10 casos de deiscência (8%), dos quais 7 evoluíram a óbito. Os achados corroboram em demonstrar o efeito deletério da presença de infecção instalada intra-abdominal concomitante à realização de suturas no intestino grosso.

A incidência de óbitos não está necessariamente relacionada às deiscências anastomóticas. Outras causas como complicações anestésicas e metabólicas durante o experimento podem ser responsáveis pelo óbito (VIZZOTO JUNIOR, 2001; DA COSTA *et al.*, 2003; BONIN *et al.*, 2005).

2.5.2. Aderências Intra-abdominais

Aderências intra-abdominais refletem a resposta inflamatória reparadora do organismo à agressão na cavidade peritoneal e, de certa forma, a atividade do processo de reparação cicatricial. A presença de deiscência anastomótica, com vazamento do conteúdo intestinal na cavidade peritoneal, é um fator importando para o estímulo da formação de aderências. Existe correlação direta entre o índice de aderências e a presença de deiscência anastomótica.

As aderências podem levar à variação na reparação tecidual da linha de sutura apresentando desde efeitos deletérios a influências benéficas, como ações protetoras biológicas e mecânicas (ADAMS, CTERCTEKO, BILOUS, 1992). Método de sistematização para a avaliação de aderências intra-abdominais foi proposto por KNIGHTLY, AGOSTINO e CLIFFTON (1962), e também utilizado por VIZZOTO JUNIOR, em 2001, DA COSTA *et al.*, 2003, BONIN *et al.*, 2005 e FERREIRA, 2004. Estes autores atribuíram índices para caracterizar quantitativamente a presença de aderências intra-abdominais. Outro sistema de quantificação destas aderências é o descrito e utilizado por VAN DER HAM, KORT, WEIJMA, VAN DEN INHG e JEECKEL (1992). Neste experimento os autores avaliaram o efeito de antibióticos na ação da fibrina na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos.

WU, AYRIZONO, FAGUNDES, COY, GÓES e LEONARDI (2003) estudaram a ação das aderências sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em

ratos. Os autores demonstraram que os subgrupos que apresentavam aderências intactas nas anastomoses apresentaram maior resistência a ruptura em relação aos grupos com aderências removidas. Além disso, subgrupos com ausência de aderências apresentaram resistência à ruptura significativamente inferior. Os autores concluíram que as aderências constituem influências benéficas sobre a anastomose, aumentando a resistência mecânica na fase inicial do reparo tecidual.

2.5.3. Métodos Mecânicos

O desenvolvimento da força mecânica é, sem dúvida, um parâmetro significativo na investigação da cicatrização anastomótica.

HOWES, SOOY e HARVEY (1929) realizaram estudo avaliando a resistência da sutura em anastomoses intestinais. Em seu estudo pioneiro, os autores demonstraram correlação entre as forças de tensão necessárias à ruptura dos tecidos estudados e o processo fibroplásico conhecido.

A avaliação da resistência das anastomoses intestinais por métodos mecânicos pode ser realizada por meio de 2 técnicas fundamentalmente diferentes: pressão de ruptura e força de ruptura. A pressão de ruptura é a medida da resistência da parede intestinal a incrementos da pressão intra-luminal. A força tênsil (força de ruptura) reflete a resistência da parede intestinal a forças exercidas na direção longitudinal.

O uso dos métodos mecânicos para a avaliação das anastomoses intestinais pode ser influenciado por inúmeras variáveis, tais como: remoção ou não dos fios de sutura, método de obtenção do raio da anastomose (durante ou depois da distensão), local da ruptura do segmento a ser estudado e presença de ruptura total ou parcial da anastomose (KORUDA E ROLANDELLI, 1990; HENDRIKS e MASTBOOM, 1990).

2.5.3.1. Pressão de ruptura

A medida da pressão de ruptura compreende a distensão de um segmento intestinal com gás ou líquido até que se desenvolva uma abertura, a pressão na qual a ruptura ocorre é a pressão de ruptura.

Esta técnica foi aplicada pela primeira vez há mais 1 século por CHLUMSKY, em 1899. A avaliação é feita no segmento do intestino onde foi realizada a anastomose, sendo que esta fica exatamente no centro da peça a ser testada. Uma das extremidades é fechada e na outra se conecta uma bomba de insuflação. Por meio desta última infunde-se líquido ou ar atmosférico até que haja ruptura da anastomose. A pressão de ruptura é registrada por manômetro ou fisiógrafo. Este método pode ser aplicado ao animal vivo e anestesiado, sem se desfazer as aderências peri-anastomóticas ou em segmento ressecado; os resultados serão diferentes nos dois casos, mas ambos com validade científica.

O desenvolvimento da força de ruptura nas anastomoses em cicatrização já foi amplamente investigado e possui um padrão bem definido. Nos primeiros 3 a 4 dias após a anastomose, a pressão de ruptura permanece baixa. Após o 4º. dia, a pressão aumenta rapidamente a valores acima daqueles observados em intestino não lesados (IRVIN e HUNT, 1974; JIBORN *et al.*, 1978). Embora o quadro qualitativo pareça estabelecido, os dados quantitativos relatados na literatura apresentam bastante diferenças.

A existência deste grau de variação é até certo ponto esperada, uma vez que o reparo tecidual pode ser afetado por vários fatores tais como: técnica de sutura, material utilizado, tratamento do intestino após o sacrifício (remoção ou não das aderências), entre outros (HENDRIKS e MASTBOOM, 1990). Desta forma, há indícios que a pressão de ruptura é apenas válida dentro de um estudo, quando o protocolo é usado por vários grupos experimentais.

A pressão de ruptura é um bom parâmetro para monitorar a cicatrização de anastomoses intestinais, contanto que a ruptura ocorra na área da anastomose. Este período compreende a primeira semana de pós-operatório, quando a tensão é baixa e a possibilidade de deiscência é relativamente alta (HENDRIKCS e MASTBOOM, 1990).

2.5.3.2. Força tênsil de ruptura

A força de ruptura é medida pela aplicação de incrementos de força na direção longitudinal em relação à anastomose. Portanto força de ruptura é a força máxima necessária para induzir a ruptura da anastomose.

Este método foi utilizado em anastomose intestinal pela primeira vez por HERRMANN, WOODWARD e PULASKI, em 1964.

FARHAT, AMER, WEEKS e MUSSELMAN (1958) desenvolveram dispositivo mecânico que efetua tração tecidual e o utilizaram para avaliação de anastomoses em processo de cicatrização. JONSSON, JIBORN e ZEDERFELDT (1983) posteriormente aprimoraram o método com o desenvolvimento de dispositivo eletro-mecânico, o qual possuía maior precisão para a aferição da força de ruptura. A utilização do método de força de tração para avaliação da resistência das anastomoses intestinais, como proposto por JONSSON *et al.* (1983), se dá pela fixação das extremidades do segmento de intestino no aparelho seguida de tração até que haja a ruptura deste segmento no local onde está a anastomose. A tração pode ser exercida com aumento contínuo da força, como utilizado por BLOMQUIST, JIBORN, ZEDERFELDT (1984), ou aumentando-se a força em intervalos.

NARESSE, MENDES, CURI, LUCCHIARI e KOBAYASI (1987) desenvolveram aparelho de tração para avaliar a força de ruptura das anastomoses intestinais. Para avaliar sua precisão foram utilizados 32 cães submetidos à anastomose de intestino delgado e aleatoriamente divididos em quatro grupos. De cada animal, em tempos diferentes de avaliação pós-operatória (3º, 7º, 14º e 21º PO), foram obtidas duas amostras: uma contendo a anastomose e outra com intestino delgado íntegro. Ambos os segmentos foram submetidos à tração no aparelho supracitado. Este foi ajustado e aferido com diferentes escalas de peso com o objetivo de testar sua precisão. As leituras de força de ruptura não apresentaram diferenças significativas frente à adição dos pesos padrões nas aferições de 100 a 600 gramas. Analisando-se a regressão linear dos resultados obtidos encontraram erro de leitura inferior a 2%. Houve variação significativa e progressiva da intensidade da força de ruptura nos segmentos contendo a anastomose nos dias 3, 7 e 14 de pós-operatório ($p < 0,01$,

$p < 0,01$ e $p < 0,05$, respectivamente) quando comparada aos segmentos íntegros de intestino delgado. A força de ruptura testada no subgrupo morto no 21º dia não apresentou diferença estatística em relação ao intestino íntegro. Os autores concluíram que o instrumento utilizado para medida de força de ruptura apresenta erros mínimos de leitura, tornando justificável sua utilização em investigações experimentais, não só da cicatrização intestinal, como de toda ferida cirúrgica.

IKEUCHI, ONODERA, AUNG, KAN, KAWAMOTO, IAMAMURA e MAETANI (1999) desenvolveram equipamento mecânico computadorizado de alta precisão para a determinação da força de ruptura. Os autores tentaram estabelecer correlação entre este método e o método de pressão de ruptura, já consagrado na literatura, bem como definir qual deles seria considerado o padrão ouro na avaliação mecânica da cicatrização de anastomoses intestinais. Foram utilizados 48 ratos em modelo experimental que tinha como objetivos estimar a pressão e tensão de ruptura, simultaneamente, na mesma anastomose colônica efetuada em cada animal, no período compreendido entre a realização da cirurgia e o 14º dia de pós-operatório. A tensão de ruptura foi determinada mediante duas variáveis: resistência tênsil mínima (força necessária para o início da ruptura da anastomose) e força máxima de tração (força necessária para realizar a disjunção da anastomose). Durante a análise das variáveis os autores notaram que, durante a fase inflamatória da cicatrização (0-4 dias), havia pobre correlação entre força e pressão de ruptura, enquanto na fase fibroplásica (≥ 5 dias) esta correlação se mostrou altamente significativa mediante análise regressiva. Valores positivos de resistência tênsil mínima e força máxima de tração foram encontrados quando a pressão de ruptura correspondente tinha valor zero. Os autores concluíram que a resistência tênsil mínima seria o melhor método para avaliação biológica da cicatrização das anastomoses enquanto que a pressão de ruptura seria mais adequada na pesquisa de integridade anastomótica em geral, não refletindo o processo cicatricial.

A força anastomótica de uma sutura recém realizada, ressecada e medida imediatamente após sua conclusão é aproximadamente 30 % daquela de um cólon intacto (BLOMQUIST *et al.*, 1984; UDEN, BLOMQUIST, JIBORN, ZEDERFELDT, 1988). Esta força diminui ainda mais, alcançando valores mínimos após 1 ou 2 dias.

Após este estágio inicial, há ganho rápido na força. Anastomoses com 7 dias apresentam força de ruptura maior do que nas anastomoses recém realizadas, porém ainda inferior à do intestino normal (HENDRIKS e MASTBOOM, 1990)

VIZZOTTO JUNIOR (2001); DA COSTA *et al.* (2003); COELHO-LEMO, CAMPOS, DE ALMEIDA, SCHULER, GURMINI, MALAFAIA e ANDRADE (2004) e BONIN *et al.* (2005) utilizaram aparelho universal de ensaio mecânico computadorizado com garras de pressão pneumática e sistema eletrônico de aquisição de dados, o que permitiu tração uniforme e constante fosse aplicado ao tecido a ser estudado.

2.5.4. Método Histológico

O colágeno tecidual pode ser avaliado de por meio de técnicas quantitativas ou qualitativas. A análise da taxa de hidroxiprolina tecidual é exemplo de técnica quantitativa (DIETZ, 1995). Esta técnica, entretanto, não permite a diferenciação entre os diferentes tipos de colágeno (MILLER e GAY, 1982). O método qualitativo pode ser realizado pelo cálculo da taxa de deposição de colágeno após a administração de prolina radioativa; os defensores deste método ressaltam que as técnicas quantitativas de colágeno não fornecem informações sobre as taxas de síntese ou degradação de colágeno e enfatizam a importância da utilização de técnicas que permitam o estudo do metabolismo do colágeno (MADDEN e PEACOCK, 1968). Outra forma de análise qualitativa é a análise da densitometria do colágeno por meio da avaliação histológica com a coloração *picrosirius-red* F3BA e microscopia polarizada. Utilizando-se esta técnica é possível identificar e caracterizar os tipos de fibras colágenas.

A coloração com *picrosirius* seguida da microscopia com polarização demonstra fibras colágenas seletivamente (CONSTANTINE E MOWRY, 1968; JUNQUEIRA, MONTES, SANCHEZ, 1982). Quando o corante *picrosirius red* F3AB, corante de ácido forte, reage com o colágeno, a sua birrefringência habitual é acentuada pelo fato de suas moléculas se aderirem às fibrilas de colágeno, de maneira que as mesmas ficam paralelas. Estudo em órgãos de animais vertebrados identificou

estreita correlação entre a localização de diferentes cores e intensidade de birrefringência com a distribuição dos tipos I, II, e III de colágeno, permitindo sua diferenciação nos tecidos. O colágeno tipo I apresenta fibras espessas, fortemente birrefringentes, de coloração amarelo ou vermelho; por outro lado o colágeno tipo III tem aspecto de fibras finas, fracamente birrefringentes, e de coloração esverdeada (SWEAT, PUCHTLER e ROSENTHAL, 1964; JUNQUEIRA, MONTES e SANCHEZ, 1982).

A coloração de *picrosirius* associada à microscopia com polarização permite a avaliação qualitativa das fibras colágenas por meio do cálculo do percentual de fibras colágenas na área analisada. Desta forma é possível classificar as fibras maduras (colágeno tipo I) e imaturas (colágeno tipo III) de acordo com a coloração, e calcular suas respectivas porcentagens. Estudos experimentais recentes têm utilizado a coloração de *picrosirius* para a avaliação qualitativa das fibras colágenas na análise da cicatrização de anastomoses intestinais (RABAU, EYAL, KLUGER, DAYAN, 1994; DA COSTA *et al.*, 2003; BONIN *et al.*, 2005; FERREIRA, 2004).

DA COSTA *et al.* (2003) demonstrou aumento significativo da área ocupada por colágeno tipo I no local da anastomose no grupo de ratos submetido à suplementação com glutamina em relação ao grupo controle. O autor também sugere que a densitometria do colágeno apresenta vantagens em relação ao método da dosagem da hidroxiprolina por permitir a diferenciação entre fibras maduras e imaturas do colágeno, enquanto a hidroxiprolina apenas permite a obtenção do valor total do aminoácido.

COELHO-LEMOES *et al.* (2004), estudo a influência da desnutrição intra-uterina na cicatrização da parede abdominal de ratos lactentes. Em seu experimento, para melhor avaliação da cicatrização com a densitometria do colágeno, foi idealizado o índice de maturação do colágeno (IMaC), que foi definido como a razão entre a porcentagem de colágeno tipo I em relação à porcentagem de colágeno tipo III. A correlação entre o IMaC e os estudos de resistência a tração foi negativa no 7º. dia de pós-operatório e positiva no 21º. dia de pós-operatório.

FERREIRA (2004) estudou os efeitos da radioterapia pré e pós-operatória na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. Foi utilizado como parâmetro de avaliação da cicatrização a análise da densitometria do colágeno (coloração de *picrosirius* e microscopia polarizada) e o estudo tensiométrico. O autor demonstrou que o IMaC no 8º. pós-operatório foi significativamente inferior nos grupos submetidos à radioterapia pré e pós-operatória em relação ao grupo controle.

Estudos experimentais em ratos tentaram correlacionar análise do colágeno (quantificação da hidroxiprolina) com a resistência mecânica nas anastomoses, entretanto em nenhum estudo foi demonstrada significância estatística (KORUDA e ROLANDELLI, 1990; BLOMQUIST *et al.*, 1984). KORUDA e ROLANDELLI (1990) consideram a análise da proporção entre colágeno imaturo e maduro o melhor método para a avaliação da resistência da sutura intestinal.

3. MATERIAL E MÉTODO

MATERIAL E MÉTODO

As normas técnicas utilizadas neste trabalho seguiram as orientações do Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social – IPARDES contidas nas Normas para Apresentação de Documentos Científicos da Universidade Federal do Paraná de 2000. Utilizou-se a *Nomina Anatomica Veterinaria* de 1975. Os procedimentos experimentais foram realizados no Centro de Pesquisa do Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná.

3.1. MATERIAL

Foram utilizados 80 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinos*, *Rodentia mammalia*), adultos, machos, com 100 dias de vida, provenientes do Biotério da Universidade Federal do Paraná, Curitiba. Os animais foram mantidos em gaiolas com capacidade para 5 animais, por um período de 7 dias para aclimação, recebendo ração balanceada padrão denominada Nuvilab CR1[®] (Tabela 1) fornecida pela Nuvital de Curitiba e água *ad libitum*. Após o período de aclimação, os ratos foram acondicionados em gaiolas metabólicas individuais (Figura 1). As condições ambientais do laboratório foram: temperatura de 22±1 °C e ciclo claro-escuro de 12 horas, controlados eletronicamente (Cronomat[®], Mallory do Brasil, São Paulo-SP). Durante todo o período de experimento os animais foram mantidos no Laboratório de Cirurgia Experimental da Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

FIGURA 1 – GAIOLA METABÓLICA.

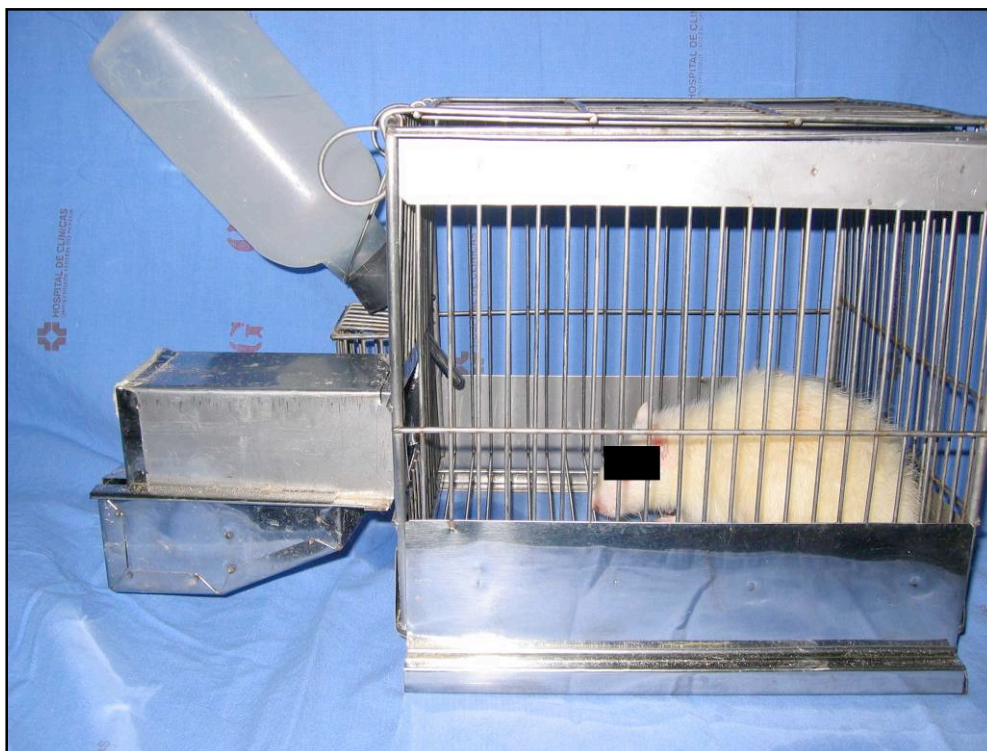


TABELA 1 – COMPOSIÇÃO DA RAÇÃO PARA RATOS
- Nuvital CR1[®] (Nuvital Nutrientes, LTDA-Colombo/PR.

COMPOSIÇÃO BÁSICA DO PRODUTO	
Carbonato de cálcio, farelo de milho, farelo de soja, farelo de trigo, fosfato bicálcico, cloreto de sódio, premix mineral vitamínico, aminoácido.	
Umidade (max)	12,5%
Proteína bruta (min)	22%
Cálcio (max)	1,40%
Fósforo (min)	0,80%
Vitaminas:	
A, D3, E, K3, B1, B2, B6, B12, niacina, ácido pantotênico, ácido fólico, biotina, colina.	
Microelementos:	
Ferro, zinco, cobre, iodo, manganês, selênio, cobalto.	

3.2. MÉTODO

O estudo foi dividido em dois experimentos, realizados sob as mesmas condições no Laboratório de Cirurgia Experimental da Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Paraná (UFPR) conforme ilustrado na Figura 2. - Esquema do Método Experimental.

3.2.1. Experimento 1

Após os 7 dias de aclimação os ratos foram pesados e divididos aleatoriamente em dois grupos de acordo com o tipo de alimentação que receberiam durante o experimento, sendo acondicionados em gaiolas metabólicas individuais.

3.2.1.1. Grupos de estudo

O grupo controle (C) recebeu dieta alimentar padrão (Nuvilab CR1, Nuvital®) *ad libitum* durante 21 dias. O grupo de estudo, grupo desnutrido (D), recebeu 50% da ingesta alimentar média do grupo controle durante 21 dias. A dieta grupo D era calculada diariamente a partir do cálculo da ingestão alimentar média do grupo controle (*pair-feeding*).

Os ratos foram pesados em intervalos de dois dias até o 21º. dia do experimento. No 21º. dia, os animais foram anestesiados e amostras de sangue foram retirada por punção cardíaca para análise da albumina sérica previamente ao procedimento cirúrgico.

3.2.2. Experimento 2:

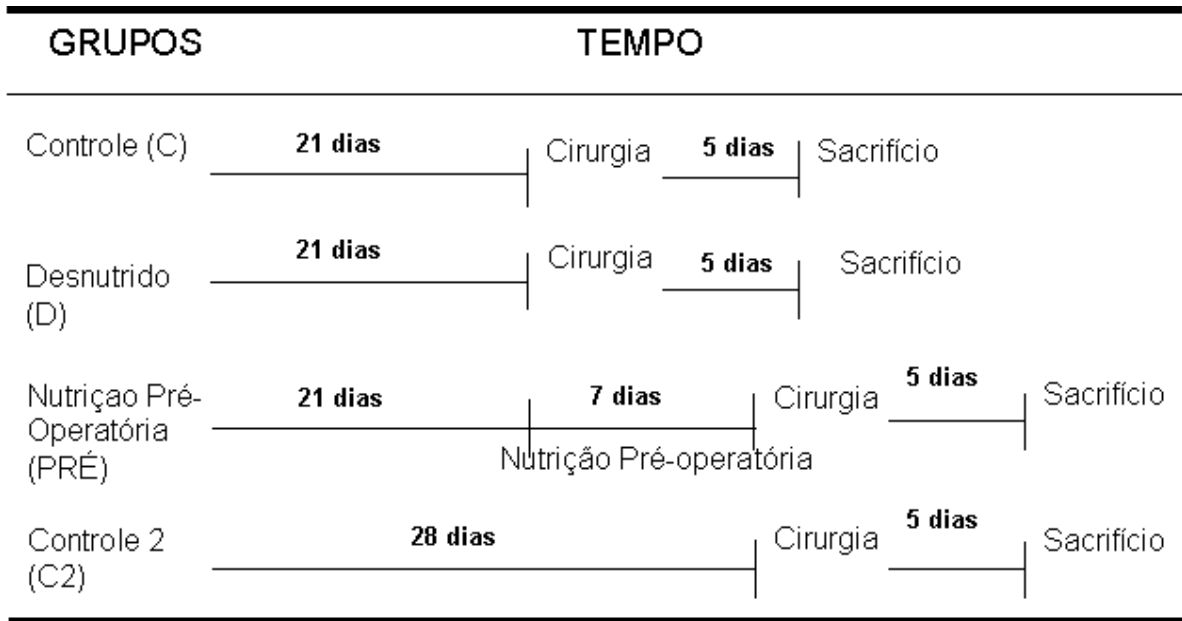
3.2.2.1 Grupos de estudo

Após 7 dias de aclimação, ratos foram pesados e divididos aleatoriamente em dois grupos de acordo com o tipo de alimentação que receberiam durante o experimento; grupo controle (C2) e grupo nutrição pré-operatória (PRÉ). Os ratos foram acondicionados em gaiolas metabólicas individuais.

O grupo C2 recebeu dieta alimentar padrão durante 28 dias. O grupo PRÉ recebeu 50% da dieta ingerida pelo grupo C2, calculada diariamente a partir do cálculo da média da ingestão diária dos animais do grupo C2, durante 21 dias (“*pair-feeding*” – alimentação pareada). No 21º. dia de experimento os animais foram anestesiados e submetidos a punção cardíaca para análise da albumina sérica. Após 21 dias o grupo PRÉ recebeu nutrição pré-operatória com dieta *ad libitum* durante 7 dias, previamente ao procedimento cirúrgico.

A dieta do grupo C2 era mensurada diariamente para o cálculo da dieta do grupo PRÉ.

FIGURA 2. ESQUEMA DO MÉTODO EXPERIMENTAL.



3.2.3. Procedimento Cirúrgico

Pré-operatório: todos os ratos foram submetidos a jejum de 12 horas prévias ao procedimento cirúrgico.

Per-operatório:

Anestesia: Para a indução anestésica dos animais foi utilizada a via inalatória com éter etílico comercial em sistema fechado de campânula; e para a manutenção

da anestesia foi utilizado Hidrato de Cloral, solução aquosa a 10%, na dose de 400mg/kg de peso do rato, intraperitoneal (BACELAR JUNIOR, 1998). Após a anestesia os animais foram pesados.

Ato Cirúrgico:

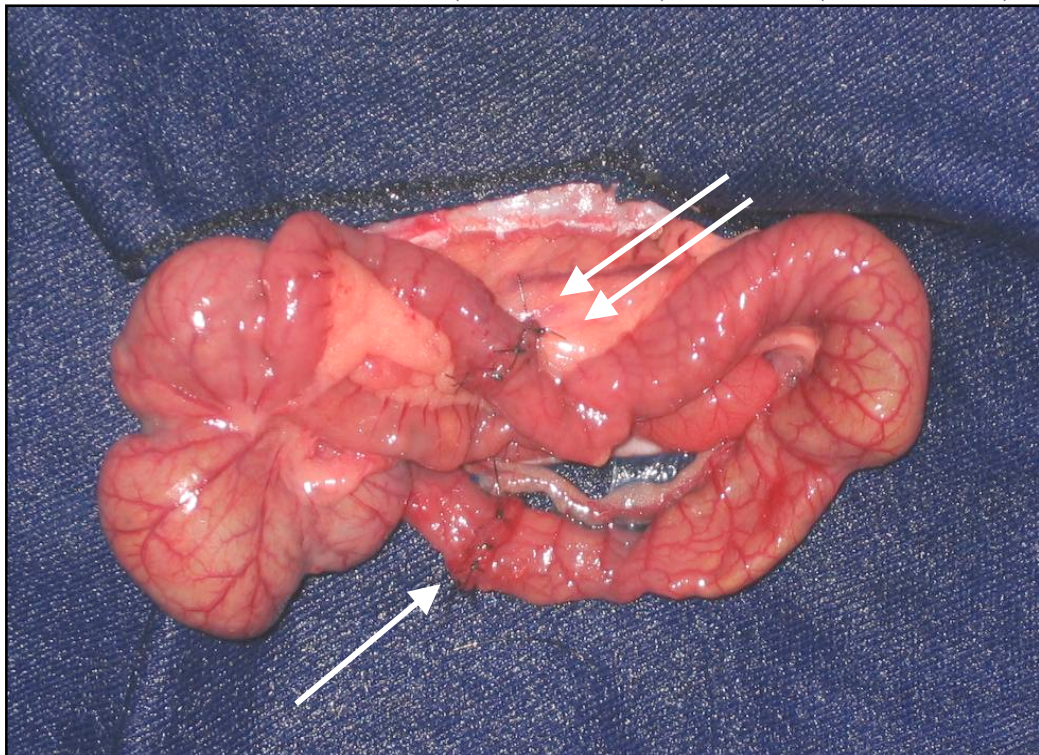
Realizou-se tricotomia da *regio abdominis media* (região abdominal média) e posterior fixação do rato à mesa cirúrgica com *membra* (membros) em extensão. Por meio de incisão abdominal mediana de cerca de 3 cm de extensão era obtido acesso ao *cavum abdominis* (cavidade peritoneal) para a exposição do cólon. Procedeu-se então a duas secções completas do cólon, a primeira na *flexura coli dextra* (flexura menor do cólon) a aproximadamente 5 cm distais do *ostium ileale* (válvula íleo-cecal) e a segunda, 6 cm distais à primeira no *colon descendens* (colon distal), atentando para a preservação dos *rami colici* (vasos cólicos). A reconstrução das duas secções foi realizada mediante anastomose término-terminal em plano único total com 8 pontos separados de fio monofilamentar de *nylon 6.0* (Mononylon®6,0, Ethicon, São José dos Campos, SP) (FIGURA 1). O fechamento da parede foi feito com sutura contínua ancorada de fio monofilamentar de *nylon 3.0* (Mononylon®3,0, Ethicon, São José dos Campos, SP) em 2 planos: músculo-aponeurótico e intradérmico.

3.2.4. Pós-Operatório

No pós-operatório imediato, foi instituído jejum de 6 horas e manutenção dos animais em gaiolas separadas. Após o período de recuperação anestésica, os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais recebendo água e ração padrão *ad libitum*.

A avaliação diária dos animais constou de observação do aspecto da ferida operatória quanto a sangramento, infecção, deiscência de pele e/ou evisceração. A pesagem dos animais foi realizada nos dias 1, 3 e 5 de pós-operatório.

FIGURA 3 – ASPECTO DO CÓLON APÓS REALIZAÇÃO DAS ANASTOMOSES PROXIMAL (SETA SIMPLES) E DISTAL (SETA DUPLA)



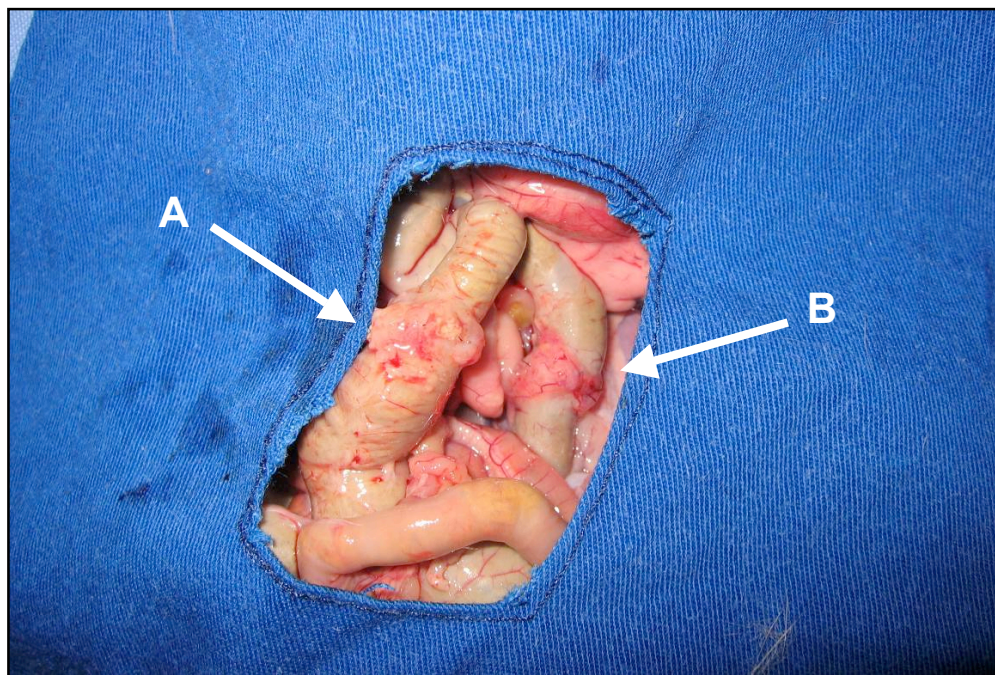
3.2.5. Sacrifício dos Animais

Todos os ratos foram sacrificados no quinto dia de pós-operatório por meio de dose letal de éter dietílico inalatório. Foi realizada laparotomia mediana para acesso à cavidade abdominal. Na seqüência, após inspeção cuidadosa da cavidade e classificação das aderências, foi realizada a lise parcial destas e retirada de dois segmentos do cólon (Figura 4), de 5 cm de extensão cada, contendo as anastomoses proximal e distal em suas porções médias. Os dois espécimes cirúrgicos de cada animal (proximal e distal) foram conservados alternadamente em solução salina isotônica e formalina a 10% para estudos de tração computadorizada e para estudo histológico, respectivamente.

Os animais que evoluíram a óbito durante o experimento foram excluídos de todas as avaliações do estudo. Na análise final os grupos eram compostos da

seguinte maneira: C com 16 animais; D, com 14 animais; C2, com 19 animais e PRÉ com 18 animais.

FIGURA 4 – ASPECTO DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS NO MOMENTO DO SACRIFÍCIO. A – ANASTOMOSE PROXIMAL; B – ANASTOMOSE DISTAL.



3.2.6. Dados Avaliados

3.2.6.1. Peso

Os ratos tiveram seus pesos aferidos no dia inicial do experimento, isto é, após os sete dias de aclimação no Laboratório de Cirurgia Experimental e a cada dois dias até o dia do sacrifício. A balança eletrônica utilizada para tal aferição (AM 5500 *Marte*®, São Paulo, SP) estava regulada de acordo com os padrões do INMETRO. Os valores do peso foram mensurados e registrados em gramas. Foi realizada a avaliação da curva de variação de peso durante o experimento.

3.2.6.2. Ingestão alimentar média

Diariamente em 2 horários pré-determinados, era oferecida a cada animal do Grupo C a quantidade fixa de 100 gramas de ração. A diferença diária entre o peso de

ração restante, bem como das perdas ao redor do recipiente e fundo da gaiola e o peso de ração ofertada no dia anterior era anotado e rotulado como ingesta alimentar. Os grupos de estudo (D e PRÉ) receberam diariamente 50% da ingesta alimentar média dos animais do grupo controle (C).

3.2.6.3. Incidência de óbitos

Todos os animais que, durante o estudo, evoluíram a óbito, apesar de não serem incluídos na análise estatística dos parâmetros de cicatrização, foram submetidos a laparotomia para identificação da *causa mortis*.

3.2.6.4. Aderências intra-abdominais

Durante a laparotomia inspecionou-se a cavidade abdominal quanto à presença de aderências, que foram quantificadas segundo o índice de *Knighthly* (KNIGHTLY 1962) conforme descrito na tabela 2.

Os índices de aderência foram agrupados dois a dois para facilitar a análise estatística desta variável qualitativa.

TABELA 2 – ÍNDICE DE ADERÊNCIAS DE KNIGHTLY

GRAU	DESCRIÇÃO
0	AUSÊNCIA DE ADERÊNCIAS
1	ADERÊNCIA ÚNICA, FINA E FACILMENTE SEPARÁVEL
2	ADERÊNCIAS EM PEQUENA EXTENSÃO, FRACAS E QUE SE ROMPEM COM PEQUENA TRAÇÃO
3	ADERÊNCIAS VISCERAIS EXTENSAS QUE SE ESTENDEM ATÉ A PAREDE
4	ADERÊNCIAS NUMEROSAS, EXTENSAS E DENSAS QUE ENVOLVEM O MESENTÉRIO, INTESTINO, OMENTO E PAREDE ABDOMINAL

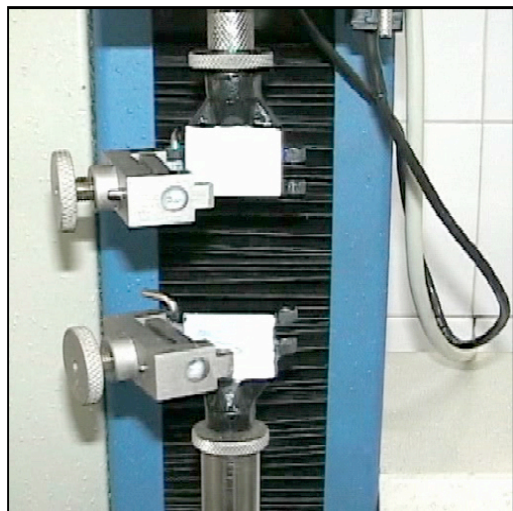
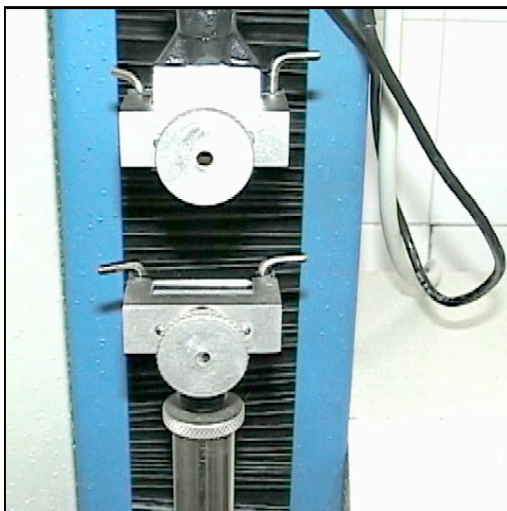
FONTE: KNIGHTLY, 1962

3.2.6.5. Força tênsil de ruptura da anastomose colônica

A avaliação da força de tensão da anastomose foi realizada no laboratório do Centro de Pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná.

Para avaliação desta variável foi utilizada máquina universal de ensaio mecânico computadorizada, da marca *EMIC*[®], modelo DL-500-MF (EMIC, *São José dos Pinhais, PR*), com garras de pressão ajustáveis manualmente e sistema eletrônico de aquisição de dados com utilização do *software TESC*, versão 1.01. (Figura 5).

FIGURA 5 – MÁQUINA DE TRAÇÃO



Os dois segmentos colônicos ressecados de cada animal foram selecionados alternadamente para o ensaio de tensão ou histológico. O segmento utilizado para a análise da tensão foi cuidadosamente dissecado para remoção das aderências e acondicionado em frascos contendo solução salina a 0,9%. O estudo foi realizado por meio de fixação das extremidades do segmento colônico utilizando presilhas de metal. A anastomose foi posicionada de modo que sua porção média ficasse equidistante das duas presilhas. Todos os testes de tração foram feitos logo após a ressecção dos corpos de prova, com intervalo máximo de 2 horas. A tração ocorreu com velocidade de 50 mm/minuto, utilizando-se carga de 10 kg com sensibilidade de 50 g, com margem de erro de 0,5% até a ruptura total do corpo de prova. A força de tração foi constantemente mensurada por meio de computador anexo ao sistema de presilhas. O programa demonstrava um sistema de coordenadas cartesianas cujo eixo *x* representava a unidade Distância e o eixo *y* a unidade Força. Inicialmente o gráfico apresentou direção ascendente. No momento da ruptura inicial, o gráfico demonstrou a mudança imediata de direção correspondendo à Força Máxima de Tração (FMT) suportada pelo corpo de prova. Durante a fase descendente do gráfico, a ruptura da peça estava em progressão, até o momento de queda de tensão ao nível zero; este ponto correspondeu à separação total dos cotos colônicos. A última força medida pelo computador, no gráfico, foi denominada Força de Ruptura Total (FRT).

As duas variáveis de força (FMT e FRT) foram submetidas à análise comparando-se os 3 grupos de animais (C, D e PRÉ).

3.2.6.6. Avaliação histológica

Após a obtenção do segmento colônico de cada animal, destinado à análise histológica, as peças cirúrgicas foram abertas em sentido longitudinal, na borda anti-mesentérica, dissecadas para a remoção das aderências, fixadas em formalina a 10% e encaminhadas para o estudo histológico (Figura 6). Secções perpendiculares ao maior eixo da sutura foram efetuadas e encaminhadas para o processamento histológico, incluindo desidratação, diafanização e emblocamento em parafina histológica. Após microtomia a 4 µm de espessura os cortes histológicos foram submetidos à coloração

de *picrosirius-red* F3BA para identificação de colágenos maduro e imaturo por técnica de microscopia com luz polarizada e análise morfométrica computadorizada (Figura 7). Foram avaliados os cortes histológicos por meio de microscópio óptico da marca *Olympus*[®] (*Olympus*, Tóquio, Japão), em aumento de 400 vezes, utilizando-se fonte de luz polarizada. As imagens foram captadas por câmera *Sony*[®] CCD 101 (*Sony*, Tóquio, Japão), transmitidas ao monitor colorido *Trinitron Sony*[®], congeladas e digitalizadas por meio de placas *Oculus TCX* (Figura 7). Finalmente, foi realizada a análise das imagens por meio de aplicativo *Image Pro-plus* versão 4.5 para *Windows* em computador da linha *Pentium*[®] III 733Mhz. A calibração do sistema foi baseada na densidade óptica dos pontos de resolução (“*pixels*”) que formam as imagens, selecionando-se o valor limite de melhor resolução. No sistema RGB (“*Red, Green, Blue*”) foram considerados valores para tons de vermelho, amarelo e laranja (colágeno tipo I) e para tons de verde (colágeno tipo III). Todas as lâminas foram avaliadas sob as mesmas condições de regulagem, dentro dos parâmetros exigidos pelo referido aplicativo (Figura 8).

Nos cortes histológicos analisados determinou-se o campo microscópico sobre a linha de sutura e foram obtidas medidas de três áreas distintas (superior, média e inferior). Em cada uma delas calculou-se o percentual da área ocupada pelas fibras que continham colágeno dos tipos I e III, em relação a área total examinada. Considerou-se como medida da porcentagem de fibras colágenas a média das áreas superior, média e inferior.

A partir da medida da porcentagem de fibras colágenas foi calculado o índice de maturação de colágeno (IMaC), definido como a razão entre essas porcentagens: **IMaC** = % de colágeno maduro (tipo I) / % de colágeno imaturo (tipo III). Valores maiores do que 1 indicam que a porcentagem de colágeno tipo I é maior do que a porcentagem de colágeno do tipo III.

FIGURA 6 – ANASTOMOSE ABERTA HORIZONTALMENTE – PREPARO DA PEÇA PARA FIXAÇÃO E AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA



FIGURA 7 – FOTOMICROGRAFIA (20X) CORADA POR *PICROSIRIUS-RED* DEPOIS DA POLARIZAÇÃO DA LUZ ILUSTRANDO DOIS SUBTIPOS DE COLÁGENO (A – COLÁGENO TIPO I; B – COLÁGENO TIPO III).

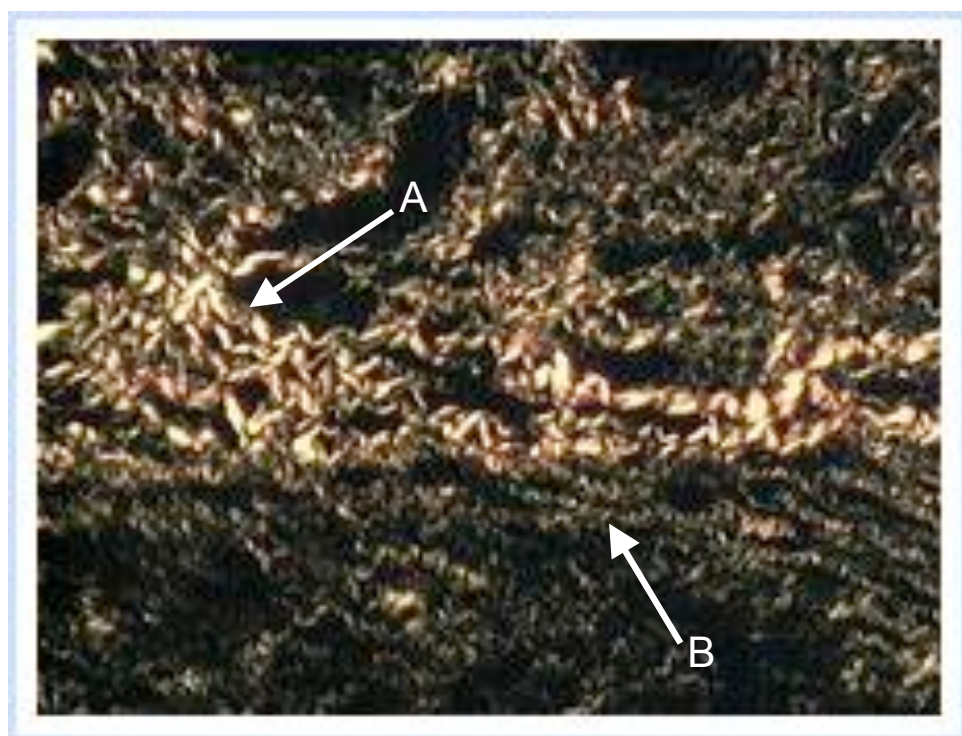
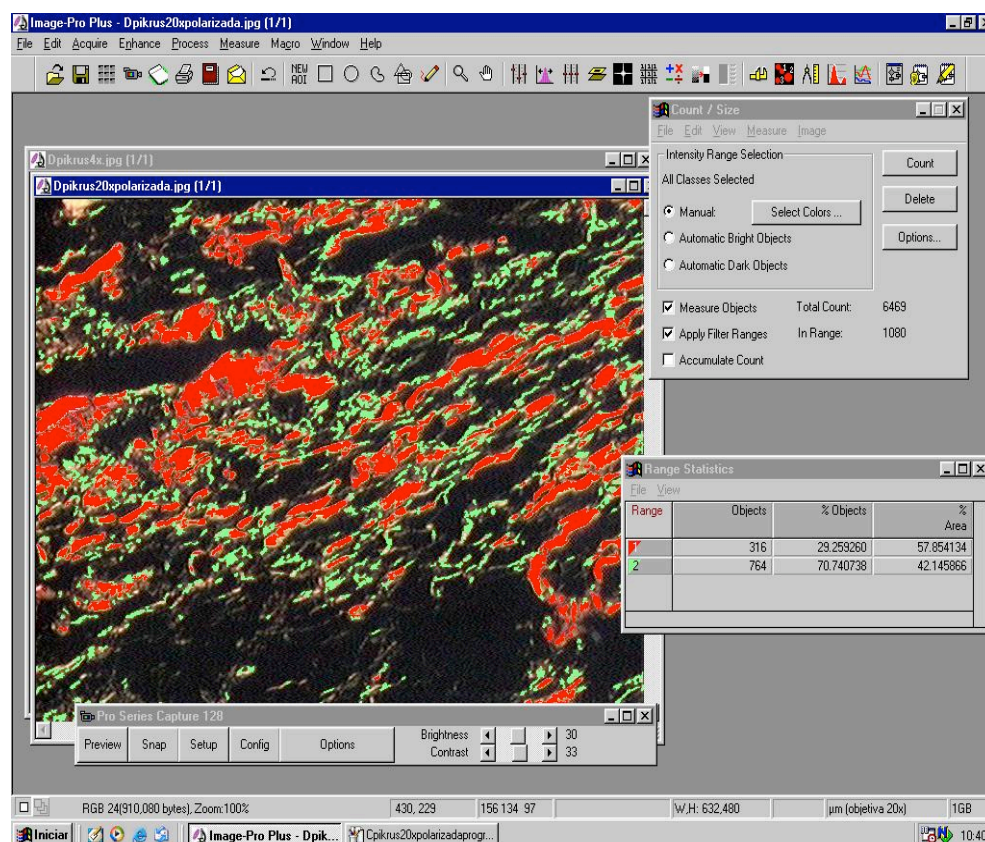


FIGURA 8 – DEMONSTRAÇÃO DO APLICATIVO *IMAGE PRÓ-PLUS* VERSÃO 4.5 NA ANÁLISE DA DENSITOMETRIA DO COLÁGENO



3.2.7. Análise Estatística

As variáveis avaliadas no estudo foram: peso inicial, peso no momento da cirurgia, peso no sacrifício, aderência, albumina, percentual de colágeno imaturo (tipo III), percentual de colágeno maduro (I), índice de maturação do colágeno (IMaC), força máxima de tração (FMT) e força de ruptura total (FRT).

Inicialmente, efetuou-se a comparação dos grupos controle 21 dias (n=16) e controle 28 dias (n=19), em relação a todas as variáveis quantitativas. Os resultados indicaram não haver diferenças significativas em relação a todas as variáveis avaliadas. Desta forma, na seqüência da análise, foi considerado apenas um grupo controle (n=35).

Para a comparação dos grupos dois a dois, em relação a variáveis quantitativas, testou-se a hipótese nula de médias iguais, *versus* a hipótese alternativa de médias

diferentes. Para tanto, considerou-se o teste t de Student para amostras independentes, levando-se em consideração a homogeneidade ou não das variâncias. Para a comparação de grupos dois a dois, em relação a variáveis qualitativas, testou-se a hipótese nula de que a proporção de uma particular classificação é igual nos dois grupos sob comparação, *versus* a hipótese alternativa de proporções diferentes. Para tanto, considerou-se o teste exato de Fisher. Quando da comparação de três grupos, em relação a variáveis quantitativas contínuas, considerou-se a análise de variância, testando-se a hipótese nula de médias iguais nos três grupos, *versus* a hipótese alternativa de pelo menos um grupo com média diferente dos demais. No caso de rejeição da hipótese nula, foram efetuadas as comparações das médias dos grupos dois a dois, considerando-se o teste de Newman-Keuls. Para a variável peso no momento da cirurgia, realizou-se a análise de covariância, considerando-se o peso inicial como co-variável. Para investigação da homogeneidade das variâncias, considerou-se o teste de Cochran. Para a investigação do grau de associação entre variáveis, considerou-se o coeficiente de correlação de Pearson, testando-se a hipótese nula de inexistência de correlação, *versus* a hipótese alternativa de correlação diferente de zero. Em todos os testes, valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística.

RESULTADOS

Dos 80 ratos estudados, 67 foram incluídos da análise estatística, subdivididos em grupos C (n=35), D (n=14), PRÉ (n=18). Dos 13 óbitos, 6 ocorreram no grupo desnutrido (D) e as causas incluíram: 3 deiscências anastomóticas e peritonite fecal e 3 óbitos por colapso pulmonar após punção cardíaca. Dois óbitos ocorreram no grupo nutrição pré-operatória (PRÉ), sendo ambos devido à deiscência anastomótica e peritonite fecal. Cinco óbitos ocorreram no grupo controle (C) sendo 2 devido a deiscência anastomótica e peritonite fecal, 2 por colapso pulmonar após punção cardíaca; e em um caso não foi identificada a causa do óbito. Os dados são apresentados como média \pm erro padrão (M \pm EP).

4.1. PESO

A média de peso inicial e erro padrão dos animais avaliados foi $325,64 \pm 4,54$. As médias de peso no início do experimento, no 21º. dia, no dia da cirurgia e no dia do sacrifício estão apresentadas na Tabela 3.

Os animais no grupo desnutrido (D) e nutrição pré-operatória (PRÉ) apresentaram perda ponderal progressiva nos 21 dias iniciais do experimento (Gráfico 1 e 2), representada pela redução da média de peso de 26.88% e 23.2% em relação à média inicial no grupo D e PRÉ, respectivamente, comparados ao grupo controle. O grupo PRÉ, por outro lado, apresentou ganho ponderal de 25,45% após 7 dias de nutrição pré-operatória. A análise do peso no momento da cirurgia evidenciou que a média foi maior no grupo controle (C) em relação ao grupo D ($356,00 \pm 7,12$ vs. $256,29 \pm 4,67$; $p=0,0001$) e PRÉ ($356,00 \pm$ vs. $295,78 \pm 5,74$; $p<0,0001$). Entretanto a média de peso do grupo PRÉ foi maior que a do grupo D ($295,78 \pm 5,74$ vs. $256,29 \pm 4,67$; $p<0,0001$). As médias e os erros-padrão da variação peso para cada grupo no dia da cirurgia estão apresentadas na Tabela 3. Após a cirurgia os grupos C e PRÉ apresentaram perda ponderal inicial discreta, seguida de ganho ponderal. No grupo D

foi demonstrado um aumento discreto do peso. Entretanto, não foi demonstrado diferença estatística significativa.

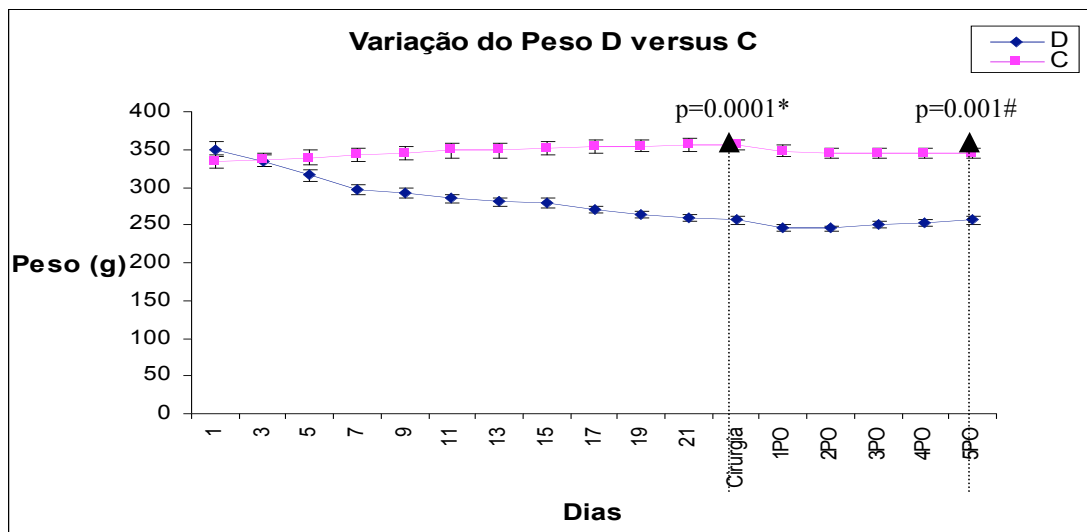
TABELA 3 – VARIAÇÃO DE PESO NOS GRUPOS C, D e PRÉ DURANTE O EXPERIMENTO

PESO (g)	GRUPO		
	C	D	PRÉ
Inicial	325,54 ± 11,69	350,50 ± 9,14	306,50 ± 10,14
Após 21 dias	351,79 ± 8,03	258,71 ± 4,57	235,38 ± 3,75
Cirurgia	356,00 ± 7,12	256,29 ± 4,67	295,78 ± 5,74
Sacrifício	345,73 ± 5,82	256,43 ± 5,78	292,22 ± 5,72

Nota: Dados expressos como M ± EP, peso em g (gramas).

C=grupo controle; D=grupo desnutrido; PRÉ=grupo nutrição pré-operatória

GRÁFICO 1 – CURVA DE VARIAÇÃO DE PESO NOS GRUPOS DESNUTRIDO E CONTROLE

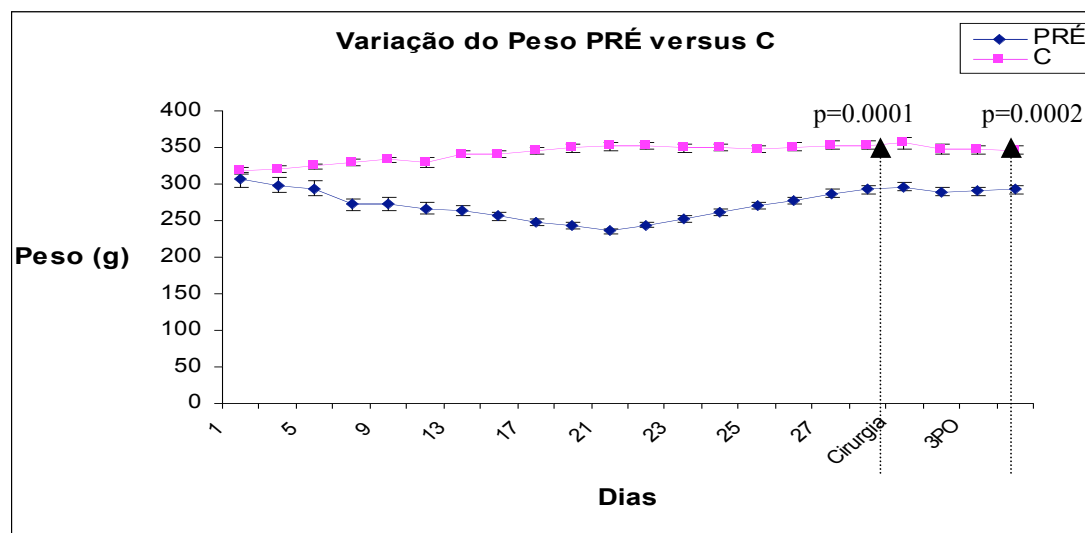


Nota: Peso expresso em gramas, M ± EP.

* Diferença estatística entre os grupos controle (C) e desnutrido (D) na data da cirurgia.

Diferença estatística entre os grupos C e D no dia do sacrifício.

GRÁFICO 2 – CURVA DE VARIAÇÃO DE PESO NOS GRUPOS NUTRIÇÃO



Nota: Peso expresso em gramas, $M \pm EP$.

* Diferença entre os grupos controle (C) e nutrição pré-operatória (PRÉ) na data da cirurgia.

Diferença entre os grupos C e PRÉ no dia do sacrifício.

4.2. ALBUMINA

A albumina sérica foi mensurada no 21º. dia de experimento nos três grupos (C, D, PRÉ). Houve diferença significativa na média da albumina sérica entre os grupos. Comparando os grupos dois a dois observou-se que os grupo D e PRÉ apresentaram média de albumina sérica estatisticamente inferior a do grupo C ($3,00 \pm 0,16$ e $3,14 \pm 0,05$ vs. $3,76 \pm 0,07$, respectivamente ($p=0,0001$). Entretanto, não houve diferença significativa entre os grupos D e PRÉ ($p=0,084$). (Tabela 4 e Gráfico 3)

TABELA 4 – NÍVEL SÉRICO DE ALBUMINA NO 21º. DIA DE EXPERIMENTO

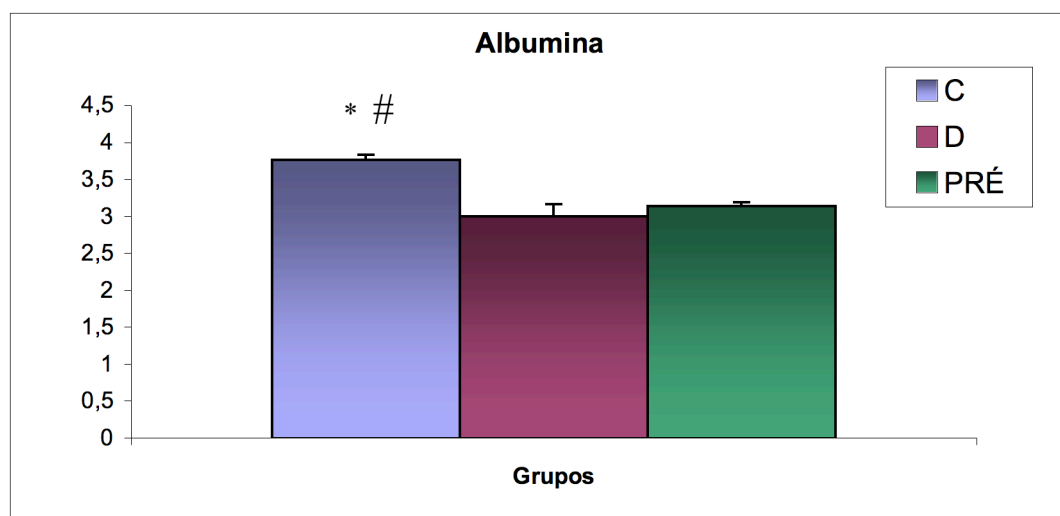
<u>ALBUMINA</u>			
GRUPOS	N	M ± EP	p
C	35	3,76 ± 0,07	
D	14	3,00 ± 0,16	*=0,0001
PRÉ	18	3,14 ± 0,05	#=0,0001

Nota: Valores de albumina média expresso em mg/dl; M ± EP.

* Nível de significância estatística entre os grupos controle (C) e desnutrido (D).

Nível de significância estatística entre os grupos C e nutrição pré-operatória (PRÉ).

GRÁFICO 3 – COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE ALBUMINA ENTRE OS GRUPOS (C, D, PRÉ) NO 21º. DIA DE EXPERIMENTO



Nota: Valores de albumina média expresso em mg/dl. M ± EP= Média ± Erro Padrão.

* Nível de significância estatística entre os grupos controle (C) e desnutrido (D) – p=0,001.

Nível de significância estatística entre os grupos C e nutrição pré-operatória (PRÉ) – p=0,001.

4.3. ADERÊNCIAS INTRA-ABDOMINAIS

Na análise das aderências intra-abdominais foram comparados índices 2 a dois para a análise estatística entre os grupos (C, D e PRÉ). Pode-se observar que o grupo D apresentou maior porcentagem de animais com índice de aderência tipo 1 e 2 de Knightly, ao contrário do grupo C, que apresentou maior porcentagem de animais no grupo 2 e 3. A análise estatística demonstrou diferença estatística entre os grupos C e D ($p=0,042$). Nas demais comparações não houve diferença estatística, conforme demonstrado na tabela 5.

TABELA 5 – COMPARAÇÃO DAS ADERÊNCIAS INTRA-ABDOMINAIS ENTRE OS GRUPOS (C, D, PRÉ); EXPRESSO EM PERCENTUAL DE RATOS.

ÍNDICE DE ADERÊNCIA	GRUPOS			
	C	D	PRÉ	P
1	5,71%	64,29%	44,44%	*0,04
2	57,14%	28,57%	44,44%	#0,06
3	37,14%	7,14%	11,11%	†1

Nota: Valores expressos em porcentagens de animais que apresentaram níveis de aderência 1, 2 ou 3.

* Nível de significância estatística entre os grupos controle (C) e desnutrido (D).

Nível de significância estatística entre os grupos C e nutrição pré-operatória (PRÉ).

† Nível de significância estatística entre os grupos D e PRÉ.

4.4. FORÇA TÊNSIL DE RUPTURA

Na análise da força tênsil de ruptura, em 9 casos a anastomose não pode ser avaliada. Nestes animais a anastomose apresentou índices de aderência grau III conforme a classificação de KNIGHTLY e na tentativa de dissecação houve ruptura da anastomose em 5 casos e em 4 casos a ruptura ocorreu fora do local da anastomose. Desta forma os grupos avaliados corresponderam a C (n=31), D (n=12) e PRÉ (n=16). A Força máxima de tração (FMT) e a força de ruptura total (FRT) foram analisadas e tiveram suas médias e erros-padrão calculados e comparados dentro dos grupos

controle (C), desnutrido (D) e nutrição pré-operatória (PRÉ). Os dados obtidos estão representados na Tabela 6 e no Gráfico 4.

Na análise da FMT, o grupo D apresentou média de FMT estatisticamente inferior à do grupo C ($0,09 \pm 0,01$ vs. $0,15 \pm 0,02$; $p=0,0145$). A FMT foi estatisticamente maior no PRÉ em relação ao grupo D ($0,15 \pm 0,01$ vs. $0,09 \pm 0,01$; $p=0,0073$). Comparando os grupos C e PRÉ ($0,15 \pm 0,02$ vs. $0,15 \pm 0,01$; $p=0,0145$), os valores foram muito semelhantes, não demonstrando diferença estatística significativa ($p=0,913$).

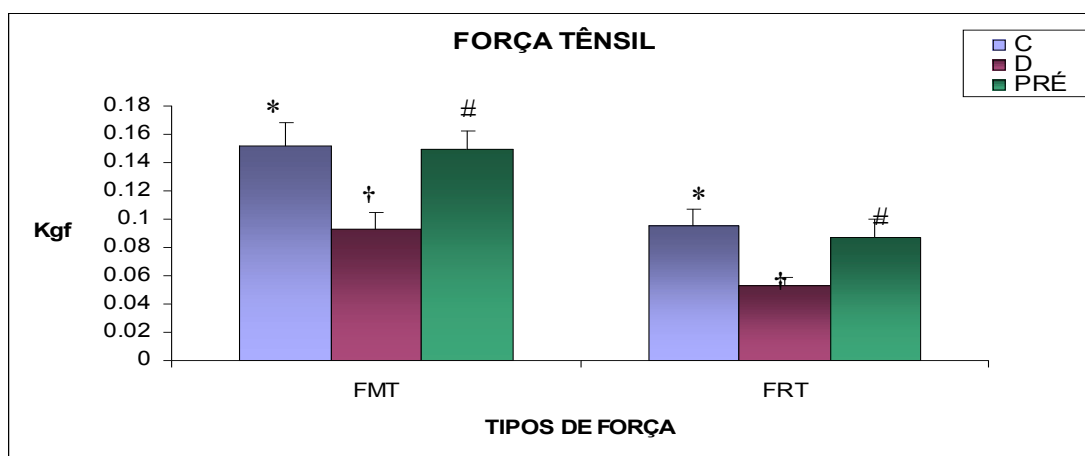
Em relação à FRT, a média foi estatisticamente menor no grupo D em comparação com o grupo C ($0,05 \pm 0,00$ vs. $0,10 \pm 0,01$; $p=0,039$). Não houve diferença estatística significativa entre os grupos C e PRÉ ($0,10 \pm 0,01$ vs. $0,09 \pm 0,01$; $p=0,564$). Quando comparados os grupos D e PRÉ, o grupo PRÉ apresentou FRT superior ao grupo C, porém não houve diferença estatisticamente significativa ($0,05 \pm 0,00$ vs. $0,09 \pm 0,01$; $p=0,0594$).

TABELA 6 – COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS, FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT) E FORÇA DE RUPTURA TOTAL (FRT) NO 5º. DIA DE PÓS-OPERATÓRIO ENTRE OS GRUPOS (C, D E PRÉ)

<u>FORÇA TÊNSIL</u>					
Grupos	N	FMT		FRT	
		MÉDIA \pm EP	p	MÉDIA \pm EP	p
C	31	$0,15 \pm 0,02$	0,014	$0,10 \pm 0,01$	0,039
D	12	$0,09 \pm 0,01$		$0,05 \pm 0,00$	
C	31	$0,15 \pm 0,02$	0,913	$0,10 \pm 0,01$	0,564
PRÉ	16	$0,15 \pm 0,01$		$0,09 \pm 0,01$	
D	12	$0,09 \pm 0,01$	0,007	$0,05 \pm 0,00$	0,0594
PRÉ	16	$0,15 \pm 0,01$		$0,09 \pm 0,01$	

Nota: EP= Erro Padrão; C=grupo controle; D=grupo desnutrido;
PRÉ= grupo nutrição pré-operatória.

GRÁFICO 4 – REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DAS MÉDIAS DA FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT) E FORÇA DE RUPTURA TOTAL (FRT) NOS GRUPOS (C, D, PRÉ) NO 5º. DIA DE PÓS-OPERATÓRIO.



Nota: Valores em Kg/m² expressos como Média ± Erro Padrão

FMT* p=0,0145 Nível de significância estatística entre os grupos controle (C) e desnutrido (D)

p=0,9130 Nível de significância estatística entre os grupos C e nutrição pré-operatória (PRÉ).

† p= 0,0073 Nível de significância estatística entre os grupos D e PRÉ.

FRT* p=0,0398 Nível de significância estatística entre os grupos controle (C) e desnutrido (D)

p=0,5649 Nível de significância estatística entre os grupos C e nutrição pré-operatória (PRÉ)

† p= 0,0594 Nível de significância estatística entre os grupos D e PRÉ.

4.5. AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Na avaliação da densitometria do colágeno a Tabela 7 demonstra as médias das áreas percentuais ocupadas pelo colágeno tipo I, tipo III e as médias do IMaC nas anastomoses intestinais no 5º dia de pós-operatório.

Com relação ao colágeno do tipo I, a média das áreas percentuais ocupadas pelo mesmo nas anastomoses nos grupos D e PRÉ foi menor em relação ao grupo C ($3,83 \pm 0,35$ vs. $6,13 \pm 0,39$; $p=0,0001$) e PRÉ ($4,90 \pm 0,36$ vs. $6,13 \pm 0,39$; $p=0,010$). Também houve diferença significativa comparando-se as médias das áreas percentuais ocupadas pelo colágeno tipo I entre os grupos D e PRÉ, sendo maior no grupo PRÉ ($3,83 \pm 0,35$ vs. $4,90 \pm 0,36$; $p=0,025$). Na análise do colágeno tipo III a média dos

valores não demonstrou diferença estatística significativa entre os grupos ($p=0,1907$) (Gráfico 5).

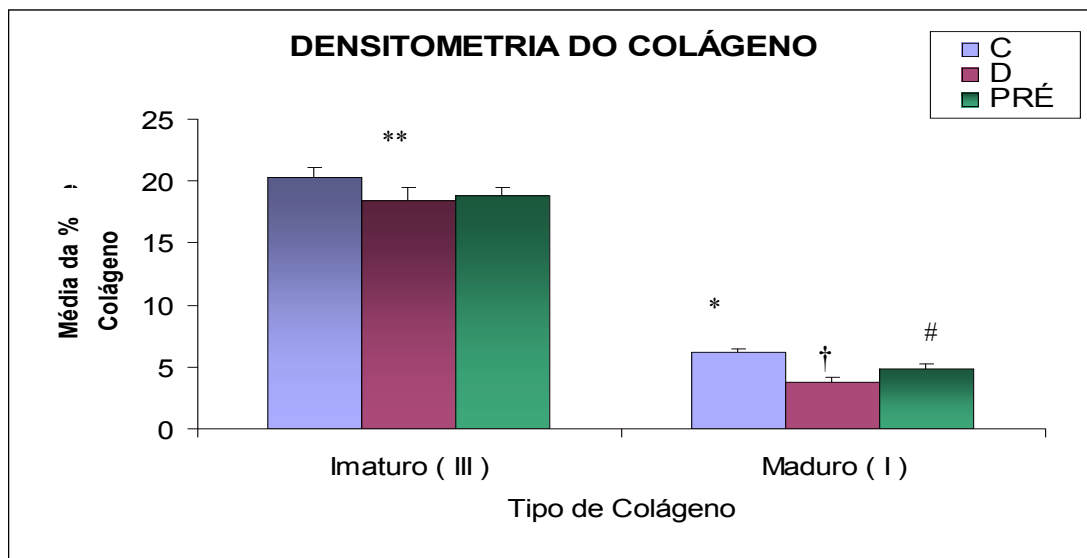
Com relação ao índice de maturação do colágeno não foram observadas médias acima de 1 em nenhum dos grupos estudados. A média nos grupo D e PRÉ foram inferiores à do grupo C ($0,21\pm0,06$ vs. $0,30\pm0,06$; $p=0,0002$ (D); e $0,26\pm0,08$ vs. $0,30\pm0,06$; $p=0,04$ [PRÉ]). Comparando-se os grupos D e PRÉ, o grupo PRÉ apresentou IMaC significativamente maior que o grupo D ($0,26\pm0,08$ vs. $0,21\pm0,06$; $p=0,0193$).

TABELA 7– COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DO PERCENTUAL DE COLÁGENO TIPOS I , III E ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO (IMaC) ENTRE OS GRUPOS (C, D E PRÉ) NO 5º DIA DE PÓS OPERATÓRIO

GRUPOS	AFERIÇÕES MÉDIAS					
	TIPO I (%)		TIPO III (%)		IMaC	
	M ± EP	p	M ± EP	p	M ± EP	p
C	6,13 ± 0,39	0,00	20,27 ± 1,03	*	0,30 ± 0,06	0,00
D	3,83 ± 0,35		18,39 ± 1,05		0,21 ± 0,06	
C	6,13 ± 0,39	0,01	20,27 ± 1,03	*	0,30 ± 0,06	0,04
PRÉ	4,90 ± 0,36		18,87 ± 1,05		0,26 ± 0,08	
D	3,83 ± 0,35	0,02	18,39 ± 1,05	*	0,21 ± 0,06	0,02
PRÉ	4,90 ± 0,36		18,87 ± 1,05		0,26 ± 0,08	

Nota: C=grupo controle; D=grupo desnutrido; PRÉ =grupo nutrição pré-operatória
M±EP= Média±Erro Padrão; * $p=0,197$

GRÁFICO 5 – REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA % DE COLÁGENO TIPO I E III DEPOSITADO NAS ANASTOMOSES NOS GRUPOS C, D E PRÉ NO 5º. DIA DE PÓS-OPERATÓRIO



Nota: Valores em % de colágeno expressos como $M \pm EP$

III ** $p=0,197$ Nível de significância estatística entre os grupos controle (C), desnutrido (D) e nutrição pré-operatória (PRÉ).
Não houve diferença entre os grupos dois a dois.

I * $p=0,0001$ Nível de significância estatística entre os grupos controle (C) e desnutrido (D)
$p=0,0101$ Nível de significância estatística entre os grupos C e nutrição pré-operatória (PRÉ)
† $p=0,0257$ Nível de significância estatística entre os grupos D e PRÉ.

4.6. CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS DE FORÇA E DENSITOMETRIA DO COLÁGENO

Não foi observada correlação entre as variáveis de força e a porcentagem de colágeno entre os grupos. A porcentagem de colágeno maduro em relação a força máxima de tração foi a única correlação que se aproximou de um nível de significância estatístico ($p=0,059$) quando todos os grupos foram considerados. Abaixo estão representados os valores que mais se aproximaram de significância estatística.

TABELA 8 – COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS DE FORÇA E PARÂMETROS HISTOLÓGICOS (COLÁGENO TIPO I E IMaC)

CORRELAÇÃO	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO	P
Colágeno tipo I x FMT	0,25	0,059
Colágeno tipo I x FRT	0,10	0,43
IMaC x FRT	0,16	0,33

Nota: FMT=Força Máxima de Tração; FRT=Força de Ruptura Toral; IMaC=Índice de Maturação do colágeno

DISCUSSÃO

Neste estudo, foi avaliado o efeito da nutrição pré-operatória na cicatrização de anastomoses intestinais em ratos desnutridos. A nutrição por 7 dias no pré-operatório foi capaz de reverter os efeitos deletérios da desnutrição.

5.1. SOBRE O MÉTODO

Vários estudos experimentais estudaram a influência da desnutrição na cicatrização de anastomoses intestinais em ratos. A escolha do rato para a realização deste experimento baseou-se no fato deste animal ser de fácil aquisição, transporte, manipulação e acondicionamento. Este animal possui regime de alimentação rudimentar, o que permite a introdução de alterações dietéticas com certa facilidade, bem como a análise das variáveis desejadas de maneira simples e objetiva. Existe dificuldade inicial na confecção das anastomoses em estruturas de pequeno diâmetro, entretanto, após treinamento, as anastomoses são perfeitamente exeqüíveis sem auxílio de instrumentos de ampliação de imagem. Além disso, dentre os trabalhos pesquisados para este estudo, o rato foi o animal utilizado com maior frequência para a pesquisa dos efeitos da desnutrição na anastomose colônica. Por estas razões, acredita-se que o rato seja animal adequado para este estudo.

Muito do que se sabe até agora sobre cicatrização foi justamente estudado na pele e extrapolado para outros tecidos. Há particularidades metabólicas inerentes a cada órgão que promovem diferentes resultados durante o processo de cicatrização. A dificuldade em se avaliar clinicamente as anastomoses colônicas justifica a necessidade de modelos experimentais que estudem o processo cicatricial no tecido em questão (KORUDA e ROLANDELLI, 1990).

A utilização do fio monofilamentar de *nylon* 6-0, no presente estudo, é justificada por se desejar mínima reação inflamatória tecidual pela presença do corpo estranho, pois esta poderia interferir no processo de cicatrização e ocasionar eventuais erros na análise dos resultados.

VIZZOTO JUNIOR (2001), SOARES (2001), COSTA (2002) e FERREIRA (2004) realizaram secções completas do cólon dos animais nos seus respectivos experimentos, seguida de confecção de anastomoses colo-colônicas término-terminais com sutura interrompida. No presente estudo, foi executado o mesmo padrão de confecção das anastomoses, permitindo a correção e a comparação entre os estudos anteriores.

O cólon do rato apresenta seis partes principais: ceco, cólon proximal, flexura menor, flexura maior, cólon distal e reto (correspondendo, de acordo com a *Nomina Anatomica Veterinaria* à seguinte denominação: *caecum*, *colon ascendens*, *flexura coli dextra*, *flexura coli sinistra*, *colon descendens* e *rectum*, respectivamente). No presente estudo, foram realizadas duas anastomoses em cada animal em locais teoricamente heterogêneos (flexura menor e cólon distal). Para eliminar esta variável, utilizou-se o artifício da alternância das peças anastomóticas para análise mecânica e histológica.

O período pós-operatório estudado foi o 5º. dia de pós-operatório. A escolha do período de cicatrização após a injúria a ser estudado baseou-se em estudos sobre a deposição de colágeno e força da anastomose. OXLUND et al. (1996) demonstraram que o maior aumento da quantidade de colágeno nas anastomoses colônicas foi entre os 4º. e o 6º dias de pós-operatório. Os autores também relataram que a força tênsil apresentou aumento dos seus índices logo após o início da deposição de colágeno, entre o 2º. e o 6º. dias de pós-operatório. JIBORN, AHONEN e ZEDERFELDT (1980), também observaram que, após o sétimo dia de pós-operatório, a medida de força de ruptura foi semelhante à do grupo controle (tecido intacto), o que limita a análise deste parâmetro além desta fase de cicatrização. Outro fator que influenciou a escolha do período a ser estudado é que a maioria das complicações anastomóticas ocorre antes de sete dias de pós-operatório (HENDRICKS e MASTBOOM, 1990). LAW e ELLIS (1989) estudaram os efeitos da desnutrição sobre a cicatrização colônica. Os autores demonstraram que ratos submetidos à dieta hipo-protéica apresentaram índices de pressão de ruptura significativamente menores em relação ao grupo controle, principalmente entre o 4º. e o 7º. dias de pós-operatório. Os autores sugerem que o 5º. dia de pós-operatório é o período mais apropriado para investigar os

efeitos da desnutrição protéica na cicatrização colônica em ratos. MARTENS e HENDRICKS (1991) também demonstraram que no 5º. pós-operatório a síntese de colágeno alcança níveis de transcrição e translação máximos.

O protocolo de anestesia utilizado no presente estudo seguiu os mesmos padrões descritos por BACELAR JUNIOR (1998). Este autor estudou os efeitos de três substâncias anestésicas em ratos: Tiopental, Hidrato de Cloral e a associação de Cetamina/Xilazina, e observou incidência aceitável de complicações com o uso de hidrato de cloral a 10% na dose de 400 mg/kg intra-peritoneal. A técnica anestésica foi considerada efetiva no presente estudo e não houve complicações que comprometessem a evolução pós-operatória do animal.

O modelo de desnutrição utilizado neste experimento baseou-se na restrição calórica de 50% da ingestão alimentar de ração padrão do grupo controle alimentado *ad libitum*, mantendo-se a concentração protéica habitual de 22%, durante o período de 21 dias. Vários estudos experimentais foram realizados com o objetivo de avaliar a influência da desnutrição na cicatrização. Entretanto, o método de desnutrição, e os parâmetros utilizados para sua avaliação não seguem o mesmo padrão, apresentando grandes diferenças entre os estudos realizados. A maioria dos experimentos utilizou dietas hipo-protéicas ou isenta de proteínas para promover a desnutrição. Entretanto não existe uniformidade nos métodos, e a quantidade de proteínas varia de zero a 5,5% da constituição da dieta (ZAIZEN et al. 1990; IRVIN e HUNT, 1974; WARD et al., 1982; IRVIN, 1976).

Outro fato a ser considerado é o período de restrição calórica ou protéica necessário para promover desnutrição e alterações na cicatrização. As alterações significativas da cicatrização foram observadas em estudos experimentais em que o período de desnutrição excedeu 7 semanas, promovendo grau de desnutrição importante (presença de perda de peso acima de 1/3 do peso corporal normal) (IRVIN 1978; ZAIZEN et al., 1990). No presente estudo foi utilizado o período de desnutrição de 21 dias (3 semanas), com o intuito de promover grau moderado de desnutrição nos ratos.

Clinicamente é muito difícil de encontrar casos puros de desnutrição calórica ou protéica, e a vasta maioria dos pacientes apresentam uma combinação de desnutrição protéico-energética. Desta forma, a escolha da restrição alimentar de 50% objetivou simular a desnutrição encontrada em pacientes cirúrgicos. SCHÄFFER et al. (1997) e COELHO-LEMOES (2003) também utilizaram este método de desnutrição. Apesar do período de desnutrição não ser uniforme nos trabalhos acima citados, os resultados são semelhantes se forem analisados de acordo com o tempo de desnutrição de cada estudo. O método de desnutrição utilizado neste estudo é também denominado de *pair feeding*, ou seja, alimentação pareada. O método de alimentação pareada possui vantagens sobre outros métodos uma vez que não demanda dietas especializadas (com diminuição ou ausência de proteínas) e reproduz estados de deficiência de ingestão nutricional. Além disso, neste modelo o cálculo da ingestão alimentar do grupo controle foi calculado diariamente, desta forma, as possíveis variações temporais, ambientais e fisiológicas presentes no grupo controle eram transmitidas para o grupo de estudo. Assim, pelo já exposto, acredita-se que o método de desnutrição usado neste experimento tenha sido adequado para promover estado de desnutrição protéico-energética moderada.

A aferição do peso é parâmetro clínico nutricional utilizado em vários estudos de cicatrização em anastomoses gastrintestinais e foi fundamental na avaliação do presente estudo, principalmente com o objetivo de correlacionar o estado nutricional com as alterações na cicatrização colônica. IRVIN e HUNT (1984), WARD et al. (1982) e KARAHASANOGLU et al. (1998) também estudaram os efeitos da desnutrição em ratos e utilizaram o peso como parâmetro mais importante de avaliação da desnutrição.

A análise da albumina sérica teve como objetivo confirmar a desnutrição. IRVIN e HUNT (1974) também utilizaram níveis de albumina sérica em seus estudos e observaram que é um bom método de avaliação em ratos submetidos a longos períodos de desnutrição. No presente estudo o tempo de desnutrição foi de 21 dias. Motivo pelo qual se acredita que a albumina seja um bom parâmetro, juntamente com o peso, para confirmar o estado nutricional dos ratos. A análise da albumina após 7

dias de nutrição pré-operatória não foi realizada devido ao fato da albumina ter longo tempo de meia vida, e não demonstraria alterações significativas em apenas 1 semana.

No presente estudo foi realizada nutrição pré-operatória durante 7 dias antes do procedimento cirúrgico. O período de 7 dias de nutrição foi baseado nos trabalhos pesquisados para o presente estudo. Estudos clínicos sugerem que a nutrição parenteral ou enteral por 7 a 10 dias no pré-operatório reduz a incidência de complicações pós-operatórias, (DETSKY et al., 1987; KLEIN et al., 1997). DA COSTA et al (2003) em estudo experimental também escolheu o período de 7 dias pré-operatório para a administração de Glutamina oral.

De acordo com HENDRIKS e MASTBOOM (1990), a investigação da cicatrização necessita de processos de quantificação. Os principais parâmetros utilizados são: clínicos, mecânicos, bioquímicos e histológicos. A preferência é pela utilização de método mecânico, bioquímico ou de combinação de ambos. No presente estudo, optou-se pelo uso de parâmetros clínicos, método mecânico (força tênsil) e método histológico: *picrosirius* e microscopia de polarização para análise da densitometria do colágeno.

A intensidade das aderências é medida indireta da presença de complicações anastomóticas e por consequência, também medida indireta na cicatrização das anastomoses. No presente estudo foi utilizado o parâmetro índice de aderências de Knighthly (KNIGHTLY et al., 1962). Entretanto, esta variável teve valor secundário na avaliação da cicatrização das anastomoses intestinais.

Os parâmetros mecânicos são utilizados com frequência em estudos de cicatrização de suturas intestinais. Os dois métodos de avaliação mais empregados são: pressão de ruptura e força de ruptura. As duas técnicas se diferenciam fundamentalmente pela direção que as forças agem sobre as suturas. Existe controvérsia entre autores sobre qual método seria o mais fidedigno para se avaliar a resistência da anastomose. O uso da força de ruptura na avaliação das anastomoses intestinais é mais recente (NARESSE et al., 1987 e 1993; LEITE et al., 1993), entretanto, demonstrou ser um parâmetro de avaliação preciso e caracterizado por fácil reprodutibilidade (VIZZOTO JUNIO, 2001; COSTA, 2003; FERREIRA, 2004).

IKEUCHI et al. (1999) demonstrou forte correlação entre os métodos pressão de ruptura e força de ruptura na avaliação da resistência das anastomoses. A correlação é maior após o quarto dia de pós-operatório. Os autores utilizaram variável denominada Resistência Tênsil Mínima (RTMI) em suas avaliações. A RTMI era caracterizada pela primeira queda transitória na curva do gráfico da tração (corresponde ao princípio de ruptura da anastomose). Segundo os autores, a RTMI seria a melhor variável para se avaliar a resistência das anastomoses. No presente estudo, a FMT corresponde à variável RTMI usada por IKEUCHI et al. (1999). A alteração da nomenclatura teve como objetivo facilitar a interpretação dos dados, uma vez que esta variável significa a intensidade máxima de força máxima de tração que a anastomose íntegra pode suportar. A força máxima de tração é considerada a variável de maior importância avaliada.

O equipamento utilizado para os estudos de tração foi semelhante ao utilizado por VIZZOTO JUNIOR (2001); SOARES (2001); COSTA (2002), BONIN (2003) e FERREIRA (2004), que foi considerado por estes autores preciso e confiável.

Durante muitos anos a análise do colágeno se resumiu à análise da quantificação da hidroxiprolina, que é um aminoácido característico da proteína colágena na maioria dos tecidos. Entretanto, vale ressaltar que os vários tipos de colágeno apresentam quantidades distintas de hidroxiprolina (MILLER e GAY, 1982). Por exemplo, as cadeias alfa do colágeno tipo III (imaturo) apresentam mais resíduos de hidroxiprolina do que as cadeias alfa de colágeno tipo I (maduro).

Mais recentemente, tem sido dada ênfase ao uso de métodos qualitativos de avaliação de colágeno (HENDRICKS e MASTBOOM, 1990; RABAU et al., 1998). Coloração de *picrosirius* com microscopia polarizada diferencia as fibras colágenas de acordo com a sua birrefringência; as fibras de maior espessura (colágeno do tipo I) aparecem fortemente birrefringentes e fibras de menor espessura (colágeno tipo III) aparecem fracamente birrefringentes. Esta diferenciação de cores permite análise qualitativa das fibras colágenas, obtendo-se a densitometria de fibras maduras (colágeno tipo I) e imaturas (colágeno tipo III) que, em última análise, reflete a

proporção de entrelaçamento das fibras (SWEAT, PUCHTLER e ROSENTHAL, 1964; e JUNQUEIRA, MONTES e SANCHES, 1982).

Pelos fatos acima expostos, o método de análise histológica escolhido para o presente estudo foi a coloração de *picrosirius* utilizando microscopia polarizada. Foi considerada a média de três medidas distintas (superior, média e inferior) visualizadas no campo microscópico da linha de sutura como medida da porcentagem de fibras colágenas. Esta avaliação foi baseada no estudo de BIONDO-SIMÕES, et al., em 2001. Com o uso deste método os diferentes tipos de fibras colágenas podem ser identificados e índices importantes, como o IMaC (COELHO-LEMO et al, 2004), podem ser avaliados.

5.2. SOBRE OS RESULTADOS

5.2.1. Análise dos Parâmetros de Desnutrição: Peso e Albumina.

No presente estudo a indução de desnutrição protéico-energética por meio de restrição em 50% da dieta padrão, promoveu redução ponderal progressiva até o 21º. dia do experimento, representada pela redução da média de peso de 26.88% e 23.20% em relação à média inicial no grupo D e PRÉ, respectivamente. A análise do peso no momento da cirurgia evidenciou que a média foi inferior nos grupos D e PRÉ em relação ao grupo controle (C) ($p=0,0001$ e $p=0,0001$, respectivamente). Entretanto a média de peso do grupo PRÉ foi maior que a do grupo D ($p=0,0001$). O ganho de peso no grupo PRÉ após 7 dias de nutrição pré-operatória foi de 24,55% em relação ao peso no 21º. dia de experimento. Entretanto, o ganho de peso não foi suficiente para alcançar os valores do grupo controle.

A média do peso inicial dos animais do grupo D, PRÉ e C não foram homogêneas no início do experimento ($p=0,0028$). Como a distribuição dos animais foi aleatória na composição dos grupos no início do trabalho, a explicação deste achado se dá pela teoria do paradoxo central da amostragem. Segundo esta teoria, apesar da existência de aleatoriedade na distribuição dos grupos de indivíduos, existe

sempre a possibilidade, mesmo que muito pequena, de haver grupos com características inicialmente diferentes.

A perda de peso tem importância fundamental no processo de cicatrização. Vários estudos experimentais, com índices de perda de peso variáveis, demonstraram alterações significativas do processo cicatricial colônico. IRVIN e HUNT em 1974 estudaram a cicatrização de anastomose colônica em ratos submetidos à dieta hipoprotéica. Animais com perda de 34% do peso corporal apresentaram diminuição significativa da força tênsil e da quantidade de colágeno nas anastomoses colônicas quando comparados ao grupo controle. No presente estudo a perda de peso de 26.88% no grupo D também resultou em diminuição significativa da força tênsil e da quantidade de colágeno tipo I na anastomose colônica de ratos quando comparada aos grupos C e PRÉ.

Resultados semelhantes foram encontrados em estudos realizados em ratos por WARD et al. (1982). Os autores demonstraram que a restrição dietética de proteína causou perda de peso de 12,4% e resultou em pressão colônica de ruptura significativamente inferior à do grupo controle. LAW e ELLIS (1989) também estudaram os efeitos de dieta hipoprotéica (0,8 g proteína/dia) sobre a cicatrização de anastomoses colônicas. O grupo desnutrido apresentou perda de peso de 11,9% e demonstrou índices de pressão de ruptura significativamente menores em relação ao grupo controle, principalmente entre o 4º. e o 7º. dias de pós-operatório.

Apesar de ter usado um período de desnutrição inferior ao utilizado no presente estudo (21 dias), KARAHASANOGLU et al. (1998) evidenciaram perda ponderal de aproximadamente 15% do peso corpóreo inicial em ratos alimentados com dieta hipoprotéica por 10 dias antes da realização de anastomose colônica. Os autores também encontraram diminuição significativa nas pressões de ruptura nas anastomoses dos animais desnutridos.

De acordo com os fatos acima expostos, acredita-se que a perda de peso de 26.88% (D) e 23.2% (PRÉ) promovida pelo método utilizado neste experimento foi efetiva em promover grau de desnutrição moderado, permitindo a análise das

alterações da cicatrização colônica na vigência de desnutrição e os efeitos da nutrição pré-operatória na cicatrização colônica dos ratos desnutridos.

Os valores de albumina sérica foram estatisticamente inferiores nos grupos D ($p=0,0001$) e PRÉ ($p=0,0001$) após 21 de desnutrição em relação ao grupo controle. A albumina após o período de desnutrição não foi avaliada devido ao grande tempo de meia vida da albumina sérica, que possivelmente não retrataria os benefícios da nutrição pré-operatória realizada por um período de 7 dias.

A análise da albumina sérica teve como objetivo confirmar a desnutrição já observada com a evolução de perda peso nos grupos desnutridos (D e PRÉ) em comparação ao grupo controle (C).

Os resultados encontrados no presente experimento foram semelhantes ao estudo realizado por IRVIN e HUNT (1974). Estes autores estudaram ratos submetidos à dieta isenta de proteínas por períodos de 3, 5 e 7 semanas. Ratos submetidos à desnutrição por período de 3 semanas apresentaram perda de peso de 25% em relação ao peso inicial e o nível sérico de albumina no grupo desnutrido foi $3,02 \pm 0,07$ em comparação a $3,58 \pm 0,08$ no grupo controle, estes resultados são muito semelhantes aos obtidos no presente experimento. Cabe ressaltar que o déficit calórico da dieta isenta de proteínas foi corrigido pelo aumento da quantidade de amido de milho. Os autores observaram que os ratos consumiam a dieta isenta de proteínas menos avidamente, e sugeriram que os animais do grupo em estudo possivelmente foram submetidos à desnutrição protéico-energética e não apenas protéica por este motivo.

Os ratos desnutridos que receberam nutrição pré-operatória com dieta padrão (PRÉ) durante 7 dias antes do procedimento cirúrgico apresentaram aumento do peso corporal, entretanto ainda inferior ao peso do grupo controle.

5.2.2. Avaliação da Cicatrização: Parâmetros Clínicos e Aderências

Parâmetros clínicos possuem menor precisão na avaliação da cicatrização, uma vez que consideram variáveis subjetivas (VIZZOTTO JUNIOR, 2001; COSTA, 2002; BONIN, 2003). No presente estudo, semelhante aos acima citados, não houve

diferença na cicatrização entre os grupos quando avaliada sob o prisma clínico de evolução.

O número de óbitos como consequência da presença de deiscências das anastomoses colônicas também é medida indireta da deficiência da cicatrização destas anastomoses. No presente trabalho houve sete mortes de animais por deiscência anastomóticas três no grupo D, duas no grupo PRÉ e duas no grupo C. Entretanto, não houve diferença estatística entre os grupos.

Com relação ao índice de aderências, no presente estudo houve diferença significativa entre os grupos C e D, demonstrando porcentagem significativamente maior de animais com índices 2 e 3 de aderência no grupo controle, em relação ao grupo desnutrido, em que a maior porcentagem dos animais apresentou níveis de aderência 1 e 2 de *Knighly* ($p=0,042$).

O grupo PRÉ apresentou índices de aderências semelhantes ao do grupo C ($p=0,06$). As aderências podem levar a variação na reparação tecidual da linha de sutura apresentando desde efeitos deletérios como obstrução intestinal (CHRISTEN, BUCKMANN, 1991) e influências benéficas, como ações protetoras biológicas e mecânicas (ADAMS, CTERCTEKO, BILOUS, 1992; GARCIA-OLMO, LUCAS, PAYA, 1996). No presente estudo a intensidade de aderências foi maior nos grupos C (maior porcentagem de animais com aderência tipo 2 e 3) e o grupo PRÉ apresentou maior porcentagem de animais com aderência tipo 2.

5.2.3. Avaliação da Cicatrização: Força Tênsil de Ruptura

Ocorreram, no presente estudo, rupturas fora da linha anastomótica, durante os testes de tração, em todos os grupos (C=4, D=2, PRÉ=2). O percentual destas rupturas tende a aumentar quanto mais tardia for a avaliação pós-operatória, o que justifica a escolher o 5º. dia de pós-operatório para análise de tração computadorizada no presente estudo. IKEUCHI et al. (1999) obteve praticamente 100% de rupturas na linha anastomótica até o quarto dia de pós-operatório, mas nos dias 5, 7 e 14 apenas 54% dos corpos de prova romperam-se na anastomose. No presente estudo, optou-se

por desprezar os ratos nos quais os corpos de prova romperam fora da linha anastomótica para análise estatística, pois a inclusão destes animais tornaria a amostra menos homogênea.

No presente estudo a força máxima de tração (FMT) foi menor no grupo desnutrido em relação aos grupos C ($p=0,0145$) e PRÉ. ($p=0,007$). A FMT foi semelhante nos grupos C e PRÉ, e não foi observada diferença estatística ($p=0,913$), este dado evidencia a nutrição pré-operatória administrada ao grupo PRÉ promoveu aumento da FMT a ponto de seu valor ter praticamente se igualado ao padrão normal (grupo C).

Com relação à força de ruptura total (FRT), esta foi estatisticamente menor no grupo D em comparação com o grupo C ($p=0,0398$). O grupo PRÉ apresentou índices de FRT superiores aos do grupo D, entretanto os valores apenas se aproximaram da significância estatística (0,059). Quando comparados os grupos C e PRÉ, os valores de FRT foram muito semelhantes ($p=0.564$).

Os dados acima demonstrados ressaltam efeitos benéficos da nutrição pré-operatória no principal parâmetro de cicatrização de anastomoses colônicas em ratos, que é a resistência mecânica das anastomoses. A desnutrição protéico-energética, portanto, causou diminuição significativa da resistência mecânica da anastomose colônica (diminuição de FMT e FRT em relação ao grupo controle). Em contraste, os ratos que receberam nutrição pré-operatória durante 7 dias apresentaram aumento significativo da resistência mecânica, demonstrado por índices de FMT e FRT semelhantes aos encontrados no grupo controle.

A diminuição da tensão de ruptura em ratos desnutridos já foi demonstrada por IRVIN e HUNT (1974). Os autores estudaram a cicatrização de anastomose colônica em ratos desnutridos e demonstraram diminuição significativa da tensão de ruptura da parede nas anastomoses colônicas do grupo desnutrido quando comparados ao grupo controle. Em estudos posteriores, IRVIN, (1976), estudou os efeitos da administração subcutânea do aminoácido essencial metionina na cicatrização de anastomoses colônicas de ratos desnutridos. A suplementação de metionina, entretanto, não

demonstrou efeitos benéficos sobre os parâmetros de cicatrização avaliados. Em estudos subseqüentes, IRVIN (1978) estudou os efeitos da desnutrição e da hiperalimentação com fórmula de aminoácidos levogirógenos (Aminutrin®) na cicatrização de anastomoses colônicas e incisão cutânea em ratos. A presença de mudanças significativas na cicatrização apenas ocorreu nos ratos gravemente desnutridos, quando a perda de peso excedeu um terço do peso corporal normal. A desnutrição grave resultou em redução profunda da força mecânica das feridas abdominais, entretanto, as alterações na força tênsil das anastomoses colônicas foram muito menos evidentes. Ao contrário do que foi observado no presente estudo, com efeitos benéficos sobre a força tênsil após nutrição pré-operatória, a terapia com preparação sintética em pó de aminoácidos levogirógenos não demonstrou efeitos na cicatrização colônica.

DA COSTA et al. (2003), demonstrou que a suplementação oral de glutamina em ratos não desnutridos durante 7 dias no pré-operatória e também no período pós-operatório causou aumento significativo da FRT em relação ao grupo controle. No presente estudo, a nutrição pré-operatória durante 7 dias promoveu resultados semelhantes. Além disso, a FMT, considerada parâmetro de avaliação mais importante do que a FRT (IKEUCHI, 1999), também teve aumento significativo. O aumento importante da força máxima observada no presente estudo pode ter sido possivelmente devido ao uso de nutrição pré-operatória em ratos desnutridos e não em ratos normais.

5.2.4. Avaliação Histológica

De acordo com a análise realizada pela coloração de *picrosirius* com microscopia polarizada os grupos D e PRÉ apresentaram diminuição do colágeno tipo I em relação ao grupo controle ($p=0,001$ e $p=0,010$, respectivamente). Entretanto, o grupo PRÉ apresentou concentração de colágeno tipo I superior ao grupo D ($p=0,026$). Estes achados reforçam os resultados encontrados no parâmetro tensiométrico (mecânico). O grupo PRÉ apresentou níveis aumentados de colágeno tipo I, porém ainda inferiores aos do grupo controle. Por outro lado, não houve diferença na

porcentagem de colágeno tipo III entre os três grupos. Entretanto, observou-se porcentagens significativamente maiores de colágeno tipo III em relação ao colágeno tipo I em todos os grupos, demonstrados por IMaC inferiores a 1 em todos os grupos estudados (C, D, PRÉ). Os grupos D e PRÉ apresentaram IMaC inferior ao do grupo C. O grupo PRÉ apresentou IMaC estatisticamente superior ao grupo D. Esta diferença no IMaC ocorreu principalmente pelas diferenças na concentração de colágeno tipo I.

BRASKEN, RENVALL, SANDBERG (1991) demonstraram que após a lesão do cólon, a expressão genética basal de colágeno, medida por *Northern Blotting*, é acentuadamente ativada, atingindo pico no 3º. dia para o colágeno tipo I e por volta do 2º. dia para o colágeno tipo III. No presente estudo a porcentagem de colágeno tipo III foi superior a de colágeno tipo I no 5º. dia de pós-operatório.

RABAU et al., em 1998, utilizaram análise quantitativa e qualitativa (*picrosirius*) para avaliar a cicatrização de anastomoses intestinais em ratos, comparando grupos controle (sem anastomose) e grupo experimental (anastomose intestinal), sacrificados nos dias 4º, 7º, 10º e 21º de pós-operatório). Os autores verificaram que a análise quantitativa (concentração total de colágeno) não demonstrou alterações significativas nos grupos submetidos à anastomose intestinal. Por outro lado, a análise do colágeno com *picrosirius* demonstrou maior índice de colágeno tipo III entre o 4º. e o 7º. dias de pós-operatório, e a partir do 10º ao 21º dia houve progressivo aumento de fibras colágenas do tipo I. O presente estudo apresentou resultados semelhantes. A avaliação do 5º. dia de pós-operatório com *picrosirius* e microscopia polarizada demonstrou maior porcentagem de colágeno tipo III em todos os grupos (C, D, PRÉ), resultando em IMaCs inferiores a 1. Foi também observado que os índices de colágeno tipo I foram maiores no grupo C em relação aos grupos D e PRÉ. O grupo PRÉ, entretanto, apresentou níveis de colágeno tipo I significativamente superiores em relação ao grupo D.

Ao contrário do que foi observado no presente estudo, DA COSTA et al., estudando os efeitos da glutamina nas anastomoses colônicas não observaram diminuição do percentual de colágeno tipo I no 3º. e 8º. pós-operatório usando a análise com *picrosirius*.

KORUDA e ROLANDELLI (1990), e BLOMQUIST, JIBORN e ZEDERFELDT (1984) tentaram correlacionar taxa de hidroxiprolina com a resistência mecânica nas anastomoses e não encontraram resultados significativos. COELHO-LEMOS et al. (2003), em estudo para verificar a influência da desnutrição intra-uterina na cicatrização da parede abdominal em ratos lactentes, idealizou o índice de maturação do colágeno (IMaC). Este índice foi definido como a razão entre as porcentagens de colágeno tipo I e tipo III. O achado de valores acima de 1 significa predominância de colágeno tipo I. A autora observou predomínio de colágeno tipo I na fase inicial da cicatrização no grupo de ratos desnutrido no 7º. dia de pós-operatório, com aumento estatisticamente significativo do percentual de colágeno tipo I em todos os animais (nutridos e desnutridos) no 21º dia de pós-operatório. A correlação entre o IMaC e os estudos de resistência à tração foi negativa no 7º. dia de pós-operatório e positiva no 21º dia de pós-operatório. No presente estudo o valor de IMaC foi menor do que 1 em todos os grupos estudados. O período avaliado no presente estudo, entretanto, foi o 5º. dia de pós-operatório, fase em que há predomínio de deposição de colágeno tipo III, ou imaturo. No presente estudo não foi encontrada correlação entre o IMaC e os estudos de resistência à tração (FMT e FRT).

BONIN (2003) em estudo para verificar o efeito da supressão ácida por pantoprazol na cicatrização de suturas gástricas, evidenciou que quando comparado o grupo controle ao grupo pantoprazol, as médias do IMaC foram maiores no grupo pantoprazol, indicando maior proporção de fibras colágenas tipo I.

Em conclusão, os grupos desnutrido e nutrição pré-operatória apresentaram proporção menor de fibras colágenas tipo I em relação ao grupo controle, traduzindo menor organização e espessamento das fibras colágenas e menor concentração de colágeno maduro. Entretanto, o grupo nutrição pré-operatória apresentou maior proporção de fibras colágenas tipo I em relação ao grupo desnutrido, demonstrando que a nutrição pré-operatória causou melhora também neste parâmetro de avaliação da cicatrização.

5.3. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

A influência da desnutrição na cicatrização das anastomoses intestinais é muito importante. O presente estudo demonstrou os efeitos negativos da desnutrição sobre a anastomose colônica em ratos, caracterizados pela força máxima de tração e força de ruptura total diminuídas, além da diminuição do percentual de colágeno tipo I.

A nutrição pré-operatória em ratos desnutridos promoveu efeitos benéficos na cicatrização da anastomose colônica, demonstradas pelo aumento de FMT, FRT e do percentual de deposição de colágeno tipo I (maduro). O grupo que recebeu nutrição pré-operatória alcançou níveis semelhantes aos do grupo controle em relação à FMT e FRT; entretanto, valores de colágeno maduro, apesar de superiores aos do grupo desnutrido ainda foram significativamente inferiores aos do grupo controle.

As perspectivas futuras são de que estudos sejam realizados com o intuito de se investigar suplementos nutricionais ou farmacológicos (farmaconutrição) que restituam o estado nutricional e, conseqüentemente, o processo cicatricial do paciente desnutrido. A utilização de suplementação com glutamina oral já demonstrou efeitos benéficos em ratos não-desnutridos (DA COSTA *et al.* 2004) restituindo a FRT e a concentração de colágeno maduro na anastomose. As perspectivas são promissoras e outros nutrientes, hormônios, suplementação de vitaminas e outras substâncias e a associação entre elas deverão ser investigados com o intuito de se identificar fatores que contribuam para a cicatrização das anastomoses colônicas na vigência de desnutrição.

REFERÊNCIAS

ADAMS, W.; CTERCKTEKO, G.; BILOUS, M. Effect of an omental wrap on the healing and vascularity of compromised intestinal anastomoses. **Dis Colon Rectum**, v.35, n.8, p.731-8, 1992.

ASZODI, A. e PONSKY, J.L. Effects of corticosteroid on the healing bowel anastomosis. **Am Surg**, v.50, n.10, p.546-8, 1984.

BACELAR JUNIOR, J.C. **Avaliação da ação das drogas hidrato de cloral, cetamina, xilazina e tiopental na anestesia em ratos**. Curitiba, 1998. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências de Saúde, Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná.

BANDA, M.J.; KNIGHTON, D.R.; HUNT, T.K. e WERB, Z. Isolation of a nonmitogenic angiogenesis factor from wound fluid. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v.79, n.24, p.7773-7, 1982.

BLOMQUIST, P.; JIBORN, H. e ZEDERFELDT, B. The effect of relative bowel rest on healing of colonic anastomoses. Breaking strength and collagen in the colonic wall following left colon resection and anastomosis in the rat. **Acta Chir Scand**, v.150, n.8, p.671-5, 1984.

BONIN, E.A.; CAMPOS, A.C.; COELHO, J.C.; MATIAS, J.E.; MALAFAIA, O. e JONASSON, T.H. Effect of pantoprazole administered subcutaneously on the healing of sutured gastric incisions in rats. **Eur Surg Res**, v.37, n.4, p.250-6, 2005.

BRAGA, M.; GIANOTTI, L.; NESPOLI, L.; RADAELLI, G. e DI CARLO, V. Nutritional approach in malnourished surgical patients: a prospective randomized study. **Arch Surg**, v.137, n.2, p.174-80, 2002.

BRASKEN, P.; RENVALL, S. e SANDBERG, M. Fibronectin and collagen gene expression in healing experimental colonic anastomoses. **Br J Surg**, v.78, n.9, p.1048-52, 1991.

BRAUNSCHWEIG, C.; GOMEZ, S. e SHEEAN, P.M. Impact of declines in nutritional status on outcomes in adult patients hospitalized for more than 7 days. **J Am Diet Assoc**, v.100, n.11, p.1316-22, 2000.

CAHILL, R.A.; SHEEHAN, K.M.; SCANLON, R.W.; MURRAY, F.E.; KAY, E.W. e REDMOND, H.P. Effects of a selective cyclo-oxygenase 2 inhibitor on colonic anastomotic and skin wound integrity. **Br J Surg**, v.91, n.12, p.1613-8, 2004.

CAMPOS, A.C.; MEGUID, M.M. e COELHO, J.C. Factors influencing outcome in patients with gastrointestinal fistula. **Surg Clin North Am**, v.76, n.5, p.1191-8, 1996.

CAMPOS, F.G.; MUCERINO, D.R.; WAITZBERG, D.L.; LOGULO, A.F.; EL IBRAHIM, R.; NADALIN, W. e HABR-GAMA, A. [Protective effects of glutamine and elemental diet in acute actinic enterocolitis: histological evaluation]. **Rev Assoc Med Bras**, v.40, n.3, p.143-9, 1994.

CHLUMSKY, V. Experimentalle untersuchungen über die verschiedenen method der darmvereinigung. **Burns Beitr Klin Chir**, v.25, p.539-600, 1899.

CHRISTENSEN, H.; CHEMNITZ, J.; CHRISTENSEN, B.C. e OXLUND, H. Collagen structural organization of healing colonic anastomoses and the effect of growth hormone treatment. **Dis Colon Rectum**, v.38, n.11, p.1200-5, 1995.

CIHAN, A.; OGUZ, M.; ACUN, Z.; UCAN, B.H.; ARMUTCU, F.; GUREL, A. e ULUKENT, S.C. Comparison of early postoperative enteral nutrients versus chow on colonic anastomotic healing in normal animals. **Eur Surg Res**, v.36, n.2, p.112-5, 2004.

COELHO-LEMOES, I.C.; CAMPOS, A.C.; DE ALMEIDA, M.; SCHULER, S.L.; GURMINI, J.; MALAFAIA, O. e ANDRADE, D.F. In utero malnutrition influences wound healing of newborn rats as measured by tensile strength and collagen deposition. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, v.28, n.4, p.241-4, 2004.

CONSTANTINE, V.S. e MOWRY, R.W. Selective staining of human dermal collagen. I. An analysis of standard methods. **J Invest Dermatol**, v.50, n.5, p.414-8, 1968.

CORREIA, M.I. e CAMPOS, A.C. Prevalence of hospital malnutrition in Latin America: the multicenter ELAN study. **Nutrition**, v.19, n.10, p.823-5, 2003.

CRONIN, K.; JACKSON, D.S. e DUNPHY, J.E. Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. **Surg Gynecol Obstet**, v.126, n.4, p.747-53, 1968.

DA COSTA, M.A.; CAMPOS, A.C.; COELHO, J.C.; DE BARROS, A.M. e MATSUMOTO, H.M. Oral glutamine and the healing of colonic anastomoses in rats. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, v.27, n.3, p.182-5, 2003.

DEMETRIADES, H.; BOTSIOS, D.; KAZANTZIDOU, D.; SAKKAS, L.; TSALIS, K.; MANOS, K. e DADOUKIS, I. Effect of early postoperative enteral feeding on the healing of colonic anastomoses in rats. Comparison of three different enteral diets. **Eur Surg Res**, v.31, n.1, p.57-63, 1999.

DETSKY, A.S.; BAKER, J.P.; O'ROURKE, K. e GOEL, V. Perioperative parenteral nutrition: a meta-analysis. **Ann Intern Med**, v.107, n.2, p.195-203, 1987.

DIETZ, U.A. **Estudo comparativo das técnicas fotolorimétrica e fluorimétrica na determinação da taxa de hidroxiprolina em amostras de tecido hidratadas e desidratadas**. Curitiba, 1995. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências de Saúde, Universidade Federal do Paraná.

EMERY, P.W. e SANDERSON, P. Effect of dietary restriction on protein synthesis and wound healing after surgery in the rat. **Clin Sci (Lond)**, v.89, n.4, p.383-8, 1995.

FARHAT, S.M.; AMER, N.S.; WEEKS, D.S. e MUSSELMAN, M.M. Effect of mechlorethamine hydrochloride (nitrogen mustard) on healing of abdominal wounds. **AMA Arch Surg**, v.76, n.5, p.749-51, 1958.

FERREIRA, M. **Radioterapia pré e pós-operatória na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos avaliada mediante estudo tensiométrico, histológico e da morfometria do colágeno**. Curitiba, 2004. 139f. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

GARCIA-OLMO, D.; PAYA, J. e GARCIA-OLMO, D.C. Role of immediate postoperative feeding on colonic anastomoses resistance. An experimental study in a rat model. **Nutr Hosp**, v.11, n.5, p.279-85, 1996.

GENZINI, T.; D'ALBUQUERQUE, L.A.; DE MIRANDA, M.P.; SCAFURI, A.G. e DE OLIVEIRA E SILVA, A. Intestinal anastomoses. **Rev Paul Med**, v.110, n.4, p.183-92, 1992.

GER, R. e RAVO, B. Prevention and treatment of intestinal dehiscence by an intraluminal bypass graft. **Br J Surg**, v.71, n.9, p.726-9, 1984.

GETZEN, L.C.; ROE, R.D. e HOLLOWAY, C.K. Comparative study of intestinal anastomotic healing in inverted and everted closures. **Surg Gynecol Obstet**, v.123, n.6, p.1219-27, 1966.

GOLIGHER, J.C.; GRAHAM, N.G. e DE DOMBAL, F.T. Anastomotic dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid. **Br J Surg**, v.57, n.2, p.109-18, 1970.

GOLUB, R.; GOLUB, R.W.; CANTU, R., JR. e STEIN, H.D. A multivariate analysis of factors contributing to leakage of intestinal anastomoses. **J Am Coll Surg**, v.184, n.4, p.364-72, 1997.

GOODSON, W.H., 3RD; LOPEZ-SARMIENTO, A.; JENSEN, J.A.; WEST, J.; GRANJA-MENA, L. e CHAVEZ-ESTRELLA, J. The influence of a brief preoperative illness on postoperative healing. **Ann Surg**, v.205, n.3, p.250-5, 1987.

GRAHAM, M.F.; DRUCKER, D.E.; DIEGELMANN, R.F. e ELSON, C.O. Collagen synthesis by human intestinal smooth muscle cells in culture. **Gastroenterology**, v.92, n.2, p.400-5, 1987.

GRAHAM, M.F.; DIEGELMANN, R.F.; ELSON, C.O.; LINDBLAD, W.J.; GOTSCHALK, N.; GAY, S. e GAY, R. Collagen content and types in the intestinal strictures of Crohn's disease. **Gastroenterology**, v.94, n.2, p.257-65, 1988.

Guidelines for the use of parenteral and enteral nutrition in adult and pediatric patients. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, v.26, n.1 Suppl, p.1SA-138SA, 2002.

HASTINGS, J.C.; VAN WINKLE, W.; BARKER, E.; HINES, D. e NICHOLS, W. The effect of suture materials on healing wounds of the bladder. **Surg Gynecol Obstet**, v.140, n.6, p.933-7, 1975.

HAYDOCK, D.A. e HILL, G.L. Impaired wound healing in surgical patients with varying degrees of malnutrition. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, v.10, n.6, p.550-4, 1986.

HAYDOCK, D.A. e HILL, G.L. Improved wound healing response in surgical patients receiving intravenous nutrition. **Br J Surg**, v.74, n.4, p.320-3, 1987.

HENDRIKS, T. e MASTBOOM, W.J. Healing of experimental intestinal anastomoses. Parameters for repair. **Dis Colon Rectum**, v.33, n.10, p.891-901, 1990.

HERRMANN, J.B.; WOODWARD, S.C. e PULASKI, E.J. Healing of Colonic Anastomoses in the Rat. **Surg Gynecol Obstet**, v.119, p.269-75, 1964.

HILL, G.L.; BLACKETT, R.L.; PICKFORD, I.; BURKINSHAW, L.; YOUNG, G.A.; WARREN, J.V.; SCHORAH, C.J. e MORGAN, D.B. Malnutrition in surgical patients. An unrecognised problem. **Lancet**, v.1, n.8013, p.689-92, 1977.

HILL, G.L. Understanding protein-energy malnutrition. In: HILL, G.L. **Disorders of nutrition and metabolism in clinical surgery. Understanding and Management**. London: Churchill Livingstone, 1992. p.71-83.

HOWES, E.L.; SOOY, J.W. e HARVEY, S.C. The healing of wounds determined by their tensile strength. **JAMA**, v.92, p.42-45, 1929.

HURLEY, J.V.; EDWARDS, B. e HAM, K.N. The response of newly formed blood vessels in healing wounds to histamine and other permeability factors. **Pathology**, v.2, n.2, p.133-45, 1970.

IKEUCHI, D.; ONODERA, H.; AUNG, T.; KAN, S.; KAWAMOTO, K.; IMAMURA, M. e MAETANI, S. Correlation of tensile strength with bursting pressure in the evaluation of intestinal anastomosis. **Dig Surg**, v.16, n.6, p.478-85, 1999.

IRVIN, T.T. e GOLIGHER, J.C. Aetiology of disruption of intestinal anastomoses. **Br J Surg**, v.60, n.6, p.461-4, 1973.

IRVIN, T.T. e HUNT, T.K. Effect of malnutrition on colonic healing. **Ann Surg**, v.180, n.5, p.765-72, 1974.

IRVIN, T.T. The effect of methionine on colonic wound healing in malnourished rats. **Br J Surg**, v.63, n.3, p.237-40, 1976.

IRVIN, T.T. Effects of malnutrition and hyperalimentation on wound healing. **Surg Gynecol Obstet**, v.146, n.1, p.33-7, 1978.

JELLIFE, D.B. The assessment of the nutritional status of the community. **World Health Organization**, Geneva, 1966.

JIBORN, H.; AHONEN, J. e ZEDERFELDT, B. Healing of experimental colonic anastomoses. I. Bursting strength of the colon after left colon resection and anastomosis. **Am J Surg**, v.136, n.5, p.587-94, 1978.

JIBORN, H.; AHONEN, J. e ZEDERFELDT, B. Healing of experimental colonic anastomoses. IV. Effect of suture technique on collagen metabolism in the colonic wall. **Am J Surg**, v.139, n.3, p.406-13, 1980.

JOHNSTONE, C.C. e FARLEY, A. The physiological basics of wound healing. **Nurs Stand**, v.19, n.43, p.59-65, 2005.

JONSSON, K.; JIBORN, H. e ZEDERFELDT, B. Breaking strength of small intestinal anastomoses. **Am J Surg**, v.145, n.6, p.800-3, 1983.

JONSSON, T. e HOGSTROM, H. Neutrophil-dependent decrease in early wound margin strength. **Arch Surg**, v.126, n.11, p.1423-6, 1991.

JULIANO, R.L. e HASKILL, S. Signal transduction from the extracellular matrix. **J Cell Biol**, v.120, n.3, p.577-85, 1993.

JUNQUEIRA, L.C.; COSSERMELLI, W. e BRENTANI, R. Differential staining of collagens type I, II and III by Sirius Red and polarization microscopy. **Arch Histol Jpn**, v.41, n.3, p.267-74, 1978.

JUNQUEIRA, L.C.; MONTES, G.S. e SANCHEZ, E.M. The influence of tissue section thickness on the study of collagen by the Picrosirius-polarization method. **Histochemistry**, v.74, n.1, p.153-6, 1982.

KARAHASANOGLU, T.; ALTINLI, E.; HAMZAOGLU, I.; PAKSOY, M.; YESILDERE, T. e ALEMDAROGLU, K. Effect of growth hormone treatment on the healing of left colonic anastomoses in protein-malnourished rats. **Br J Surg**, v.85, n.7, p.931-3, 1998.

KIYAMA, T.; WITTE, M.B.; THORNTON, F.J. e BARBUL, A. The route of nutrition support affects the early phase of wound healing. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, v.22, n.5, p.276-9, 1998.

KLEIN, S.; KINNEY, J.; JEEJEEBHOY, K.; ALPERS, D.; HELLERSTEIN, M.; MURRAY, M. e TWOMEY, P. Nutrition support in clinical practice: review of published data and recommendations for future research directions. National Institutes of Health, American Society for Parenteral and Enteral Nutrition, and American

Society for Clinical Nutrition. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, v.21, n.3, p.133-56, 1997.

KNIGHTLY, J.J.; AGOSTINO, D. e CLIFFTON, E.E. The effect of fibrinolysin and heparin on the formation of peritoneal adhesions. **Surgery**, v.52, p.250-58, 1962.

KORUDA, M.J. e ROLANDELLI, R.H. Experimental studies on the healing of colonic anastomoses. **J Surg Res**, v.48, n.5, p.504-15, 1990.

LAPIERE, C.M.; NUSGENS, B. e PIERARD, G.E. Interaction between collagen type I and type III in conditioning bundles organization. **Connect Tissue Res**, v.5, n.1, p.21-9, 1977.

LAW, N.W. e ELLIS, H. Revised model for the study of colonic anastomotic healing in protein malnourished rats. **Eur Surg Res**, v.21, n.3-4, p.218-23, 1989.

LAW, N.W. e ELLIS, H. The effect of parenteral nutrition on the healing of abdominal wall wounds and colonic anastomoses in protein-malnourished rats. **Surgery**, v.107, n.4, p.449-54, 1990.

LEITE, C.V.; NARESSE, L.E.; KOBAYASI, S.; MINOSSI, J.G.; BURINI, R.C.; CURI, P.R. e HOSSNE, W.S. Efeitos da desnutrição protéica na anastomose do cólon distal no rato. Estudo da força de ruptura e do colágeno tecidual. **Acta Cir Bras**, v.8, p.145-50, 1993.

LUNA-PEREZ, P.; RODRIGUEZ-RAMIREZ, S.E.; GUTIERREZ DE LA BARRERA, M. e LABASTIDA, S. [Multivariate analysis of risk factors associated with dehiscence of colorectal anastomosis after anterior or lower anterior resection for sigmoid or rectal cancer]. **Rev Invest Clin**, v.54, n.6, p.501-8, 2002.

LUNDBERG, C. e GERDIN, B. The inflammatory reaction in an experimental model of open wounds in the rat. The effect of arachidonic acid metabolites. **Eur J Pharmacol**, v.97, n.3-4, p.229-38, 1984.

MADDEN, J.W. e PEACOCK JR, E.E. Studies on the biology of collagen during wound healing. I. Rate of collagen synthesis and deposition in cutaneous wounds of the rat. **Surgery**, v.64, n.1, p.288-94, 1968.

MANSSON, P.; ZHANG, X.W.; JEPPSSON, B. e THORLACIUS, H. Anastomotic healing in the rat colon: comparison between a radiological method, breaking strength and bursting pressure. **Int J Colorectal Dis**, v.17, n.6, p.420-5, 2002.

MARTENS, M.F. e HENDRIKS, T. Postoperative changes in collagen synthesis in intestinal anastomoses of the rat: differences between small and large bowel. **Gut**, v.32, n.12, p.1482-7, 1991.

MARTENS, M.F.; HUYBEN, C.M. e HENDRIKS, T. Collagen synthesis in fibroblasts from human colon: regulatory aspects and differences with skin fibroblasts. **Gut**, v.33, n.12, p.1664-70, 1992.

MANTZOROS, I.; KANELLOS, I.; DEMETRIADES, H.; CHRISTOFORIDIS, E.; KANELLOS, D.; PRAMATEFTAKIS, M.G.; ZARABOUKAS, T. e BETSIS, D. Effects of steroid on the healing of colonic anastomoses in the rat. **Tech Coloproctol**, v.8 Suppl 1, p.s180-3, 2004.

MCWHIRTER, J.P. e PENNINGTON, C.R. Incidence and recognition of malnutrition in hospital. **Bmj**, v.308, n.6934, p.945-8, 1994.

MILLER, E.J.; GAY, S. Collagen: an overview. **Method enzymol**, v. 82 Pt A, p.3-32, 1982.

MORA, R.J. Malnutrition: organic and functional consequences. **World J Surg**, v.23, n.6, p.530-5, 1999.

NARESSE, L.E.; MENDES, E.F.; CURI, P.R.; LUCCHIARI, P.H. e KOBAYASI, S. Aparelho para a medida da força de ruptura das anastomoses intestinais. **Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo**, v.42, p.204-208, 1987.

NARESSE, L.E.; LEITE, C.V.; RODRIGUES, M.A.; ANGELELI, A.Y.; MINOSSI, J.G. e KOBAYASI, S. Efeitos da peritonite fecal na cicatrização do cólon distal do rato. Avaliação anatomopatológica, estudo da força de ruptura e da hidroxiprolina tecidual. **Acta Cir Bras**, v.8, n.2, p.48-53, 1993.

OXLUND, H.; CHRISTENSEN, H.; SEYER-HANSEN, M. e ANDREASSEN, T.T. Collagen deposition and mechanical strength of colon anastomoses and skin incisional wounds of rats. **J Surg Res**, v.66, n.1, p.25-30, 1996.

PROCKOP, D.J.; KIVIRIKKO, K.I.; TUDERMAN, L. e GUZMAN, N.A. The biosynthesis of collagen and its disorders (first of two parts). **N Engl J Med**, v.301, n.1, p.13-23, 1979.

PROCKOP, D.J.; KIVIRIKKO, K.I.; TUDERMAN, L. e GUZMAN, N.A. The biosynthesis of collagen and its disorders (second of two parts). **N Engl J Med**, v.301, n.2, p.77-85, 1979.

RABAU, M.; EYAL, A.; KLUGER, Y. e DAYAN, D. Bursting pressure in anastomotic healing in experimentally induced colitis in rats. **Dis Colon Rectum**, v.41, n.4, p.468-72, 1998.

RAVO, B. Colorectal anastomotic healing and intracolonic bypass procedure. **Surg Clin North Am**, v.68, n.6, p.1267-94, 1988.

REED, B.R. e CLARK, R.A. Cutaneous tissue repair: practical implications of current knowledge. II. **J Am Acad Dermatol**, v.13, n.6, p.919-41, 1985.

ROLANDELLI, R.H.; KORUDA, M.J.; SETTLE, R.G. e ROMBEAU, J.L. Effects of intraluminal infusion of short-chain fatty acids on the healing of colonic anastomosis in the rat. **Surgery**, v.100, n.2, p.198-204, 1986.

ROSS, R. e ODLAND, G. Human wound repair. II. Inflammatory cells, epithelial-mesenchymal interrelations, and fibrogenesis. **J Cell Biol**, v.39, n.1, p.152-68, 1968.

RUBERG, R.L. Role of nutrition in wound healing. **Surg Clin North Am**, v.64, n.4, p.705-14, 1984.

RUDOLPH, R.; VAN DER BERG, J. e EHRLICH, H.P. Wound contraction and scar contracture. In: CHOEN, K.D., R.F.; LINDBLAND, W.J. **Wound healing, biochemical and clinical aspects**. Philadelphia: WB Saunders, 1992. p.96.

SCHAFFER, M.R.; TANTRY, U.; AHRENDT, G.M.; WASSERKRUG, H.L. e BARBUL, A. Acute protein-calorie malnutrition impairs wound healing: a possible role of decreased wound nitric oxide synthesis. **J Am Coll Surg**, v.184, n.1, p.37-43, 1997.

SCHROCK, T.R.; DEVENNEY, C.W. e DUNPHY, J.E. Factor contributing to leakage of colonic anastomoses. **Ann Surg**, v.177, n.5, p.513-8, 1973.

SCHROEDER, D.; GILLANDERS, L.; MAHR, K. e HILL, G.L. Effects of immediate postoperative enteral nutrition on body composition, muscle function, and wound healing. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, v.15, n.4, p.376-83, 1991.

STRATTON, R.J.; HACKSTON, A.; LONGMORE, D.; DIXON, R.; PRICE, S.; STROUD, M.; KING, C. e ELIA, M. Malnutrition in hospital outpatients and inpatients: prevalence, concurrent validity and ease of use of the 'malnutrition universal screening tool' ('MUST') for adults. **Br J Nutr**, v.92, n.5, p.799-808, 2004.

STUDLEY, H.O. Percentage of weight loss: a basic indicator of surgical risk in patients with chronic peptic ulcer. 1936. **Nutr Hosp**, v.16, n.4, p.141-3, 2001.

STUMPF, M.; KLINGE, U.; WILMS, A.; ZABROCKI, R.; ROSCH, R.; JUNGE, K.; KRONES, C. e SCHUMPELICK, V. Changes of the extracellular matrix as a risk factor for anastomotic leakage after large bowel surgery. **Surgery**, v.137, n.2, p.229-34, 2005.

SWEAT, F.; PUCHTLER, H. e ROSENTHAL, S.I. Sirius red F3BA as a stain for connective tissue. **Arch Pathol**, v.78, p.69-72, 1964.

THORNTON, F.J.; BARBUL, A. Healing in the gastrointestinal tract. **Surg Clin North Am**, v.77, n.3, p.546-73, 1997

UDEN, P.; BLOMQUIST, P.; JIBORN, H. e ZEDERFELDT, B. Influence of long-term relative bowel rest on the healing of a left colon anastomosis. **Dis Colon Rectum**, v.31, n.11, p.886-91, 1988.

VAN DER HAM, A.C.; KORT, W.J.; WEIJMA, I.M.; VAN DEN INGH, H.F. e JEEKEL, H. Effect of antibiotics in fibrin sealant on healing colonic anastomoses in the rat. **Br J Surg**, v.79, n.6, p.525-8, 1992.

VIZZOTO JUNIOR, A.O. **Influência da cisplatina administrada no pré e pós-operatório sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos testado pela força de resistência à tração**. Curitiba, 2001. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências de Saúde, Universidade Federal do Paraná.

WAHL, L.M. e WAHL, S.M. Inflammation. In: COHEN, K.D., R.F.; LINDBLAND, W.J. **Wound Healing, Biochemical and Clinical Aspects**. Philadelphia: WB Saunders, 1992. p.40.

WAITZBERG, D.L.; CAIAFFA, W.T. e CORREIA, M.I. Hospital malnutrition: the Brazilian national survey (IBRANUTRI): a study of 4000 patients. **Nutrition**, v.17, n.7-8, p.573-80, 2001.

WARD, M.W.; DANZI, M.; LEWIN, M.R.; RENNIE, M.J. e CLARK, C.G. The effects of subclinical malnutrition and refeeding on the healing of experimental colonic anastomoses. **Br J Surg**, v.69, n.6, p.308-10, 1982.

WARD, N. Nutrition support to patients undergoing gastrointestinal surgery. **Nutr J**, v.2, p.18, 2003.

WINDSOR, J.A.; KNIGHT, G.S. e HILL, G.L. Wound healing response in surgical patients: recent food intake is more important than nutritional status. **Br J Surg**, v.75, n.2, p.135-7, 1988.

WITTE, M.B. e BARBUL, A. General principles of wound healing. **Surg Clin North Am**, v.77, n.3, p.509-28, 1997.

WU, F.C.; AYRIZONO, M.L.; COY, C.S.; GOES, J.R. e LEONARDI, L.S. Estudos biomecânicos sobre a ação de aderências sobre anastomoses cólicas. Trabalho experimental em ratos. **Acta Cir Bras**, v.18, p.216-23, 2003.

YOUNG, M.E. Malnutrition and wound healing. **Heart Lung**, v.17, n.1, p.60-7, 1988.

YUE, D.K.; SWANSON, B.; MCLENNAN, S.; MARSH, M.; SPALIVIERO, J.; DELBRIDGE, L.; REEVE, T. e TURTLE, J.R. Abnormalities of granulation tissue and collagen formation in experimental diabetes, uraemia and malnutrition. **Diabet Med**, v.3, n.3, p.221-5, 1986.

ZAIZEN, Y.; FORD, E.G.; COSTIN, G. e ATKINSON, J.B. Stimulation of wound bursting strength during protein malnutrition. **J Surg Res**, v.49, n.4, p.333-6, 1990.

ZAIZEN, Y.; FORD, E.G.; COSTIN, G. e ATKINSON, J.B. The effect of perioperative exogenous growth hormone on wound bursting strength in normal and malnourished rats. **J Pediatr Surg**, v.25, n.1, p.70-4, 1990.